

**IDENTIFIKASI MOLEKULER BAKTERIPADA
SALIVA ANJING (*Canis lupus familiaris*)
RAS GOLDEN RETRIEVER**



Skripsi

Diajukan Untuk Memenuhi Salah Satu Syarat Meraih Gelar
Sarjana Sains Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi
Pada Fakultas Sains Dan Teknologi
UIN Alauddin Makassar

Oleh:

FITRIA RAMADANA

NIM: 60300114014

**FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UIN ALAUDDIN MAKASSAR
2018**

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan dibawah ini:

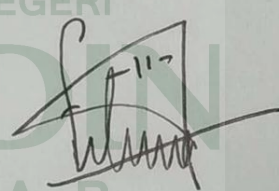
Nama : Fitria Ramadana
NIM : 60300114014
Tempat/ Tgl. Lahir : Sinjai, 06 Maret 1996
Jur/Prodi : Biologi
Fakultas : Sains dan Teknologi
Alamat : Pangasa, Kel. Samataring Kec. Sinjai Timur, Kab. Sinjai
Judul : Identifikasi Molekuler Bakteri pada Saliva Anjing (*Canis lupus*) Ras Golden Retriever

Menyatakan dengan sesungguhnya dan penuh kesadaran bahwa skripsi ini benar adalah atau dibuat oleh orang lain, sebagian atau seluruhnya, maka skripsi dan gelar yang diperoleh karenanya batal demi hukum.

Samata, 04 Juni 2018

Penyusun

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI
ALAUDDIN
MAKASSAR


Fitria Ramadana

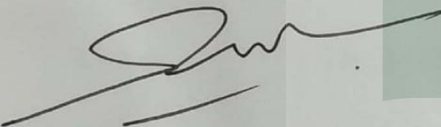
NIM: 60300114010

PERSETUJUAN PEMBIMBING

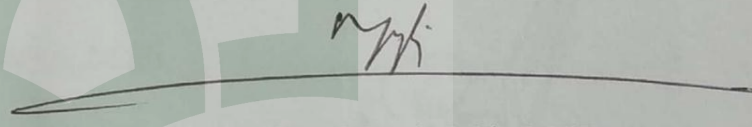
Pembimbing penulisan skripsi Saudari **Fitria ramadana**, NIM: 60300114014, mahasiswa Jurusan Biologi pada Fakultas Sains dan Teknologi UIN Alauddin Makassar, setelah meneliti dan mengoreksi dengan seksama skripsi berjudul, “Identifikasi Molekuler Bakteri pada Saliva Anjing (*Canis lupus familiaris*) ras Golden Retriever”, memandang bahwa skripsi tersebut telah memenuhi syarat-syarat ilmiah dan dapat disetujui untuk diajukan ke sidang Munasqasyah.

Demikian persetujuan ini diberikan untuk diproses lebih lanjut.

Samata, 07 Juni 2018



Dr. Fatmawati Nur, S.Si., M.Si..
Pembimbing II



Dr. Mashuri Masri, S.Si., M.Kes.
Pembimbing I

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI
ALAUDDIN
M A K A S S A R

PENGESAHAN SKRIPSI

Skripsi yang berjudul, "Identifikasi Molekuler Bakteri pada Saliva Anjing (*Canis lupus familiaris*) ras Golden retriever", yang disusun oleh Fitria Ramadana, NIM: 60300114014, mahasiswa Jurusan Biologi pada Fakultas Sains dan Teknologi UIN Alauddin Makassar, telah diuji dan dipertahankan dalam sidang *munaqasyah* yang diselenggarakan pada hari Kamis, tanggal 07 Juni 2018 M, bertepatan dengan 22 ramadhan 1439 H, dinyatakan telah dapat diterima sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana dalam Ilmu Sains dan Teknologi, Jurusan Biologi (dengan beberapa perbaikan).

Samata, 07 Juni 2018 M.

22 Ramadhan 1439 H.

DEWAN PENGUJI:

Ketua : Dr. Muh. Tahir Maloko, M.Hi (.....)

Sekretaris : Hasyimudin, S.Si., M.Si. (.....)

Munaqisy I : Eka Sukmawaty, S.Si., M.Si (.....)

Munaqisy II : Prof. Dr. H. Arifuddin, M.Ag. (.....)

Pembimbing I : Dr. Mashuri Masri, S.Si., M.Kes. (.....)

Pembimbing II : Dr. Fatmawati Nur, S.Si., M.Si. (.....)

Diketahui oleh:

Dekan Fakultas Sains dan Teknologi
UIN Alauddin Makassar,



Prof. Dr. H. Arifuddin, M.Ag.
NIP. 19691205 199303 1 001

KATA PENGANTAR

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Setelah melalui proses pengerjaan yang cukup panjang, akhirnya skripsi ini dapat juga terselesaikan. Untuk itu, penulis memanjatkan segala pujian dan rasa syukur tertinggi atas segala limpahan rahmat dan karunia-Nya. Dialah Allah, Tuhan semesta alam yang mengajarkan kepada manusia semua ilmu di muka bumi ini.

Dia pulalah yang memberikan potensi kesuksesan kepada manusia. Memberikan akal, penglihatan, pendengaran dan hati kepada manusia untuk dapat meraih sesuatu yang diinginkan. Salawat dan salam semoga dilimpahkan kepada para Nabi, para Rasul dan pengikut mereka hingga akhir zaman. Salawat dan salam paling sempurna semoga senantiasa dilimpahkan kepada baginda Rasulullah Muhammad saw. yang tak kenal lelah menyampaikan risalah, amanat dan nasehat kepada seluruh manusia. Semoga Allah memberinya kebaikan, wasilah, keutamaan, kemuliaan dan kedudukan yang terpuji.

Skripsi ini dapat terselesaikan dengan adanya bantuan yang penulis peroleh dari berbagai pihak. Tidak mungkin menyebutkan mereka satu persatu di sini. Meskipun begitu, pihak yang secara langsung terkait dan berjasa dalam pengerjaan tulisan ini harus disebutkan. Namun, penulis memohon pengertian mereka yang seharusnya disebutkan namun tak disebutkan karena keterbatasan ruang. Pertama-tama penulis menyampaikan ucapan terima kasih yang dalam dan tulus kepada kedua orang tua penulis yakni ayahanda Hasan dan ibunda

Masnu'ayang senantiasa merawat dan mendidik penulis dari kecil hingga sekarang. Terutama bagi ibu penulis semoga Allah senantiasa memberikan tempat terbaik. Penulis menyadari bahwa ucapan terima kasih penulis tidak sebanding dengan pengorbanan yang dilakukan oleh keduanya. Untuk ayahanda tercinta, pengertian, motivasi dan doa yang selalu engkau panjatkan senantiasa penulis ingat, kagumi dan hargai.

Selanjutnya, penulis sudah sepatutnya menyampaikan terima kasih kepada:

1. Bapak Prof. Dr. Musafir Pabbari, M.Si., selaku Rektor Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar.
2. Bapak Prof. Dr. H. Arifuddin, M.Ag. selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Alauddin Makassar. beserta Wakil Dekan I, II dan III, dan seluruh staf administrasi yang telah memberikan berbagai fasilitas kepada kami selama masa pendidikan.
3. Bapak Dr. Mashuri masri, S.Si., M.Kes selaku ketua jurusan Biologi serta penasehat akademik dan pembimbing I dalam penulisan skripsi yang telah meluangkan waktunya sehingga penulisan skripsi ini dapat terselesaikan, serta sekretaris Jurusan Biologi atas segala ilmu, petunjuk serta arahnya selama berkuliah di UIN Alauddin.
4. Ibu Dr. Fatmawati Nur, S.Si., M.Si selaku pembimbing II dalam penulisan skripsi yang senantiasa menyisihkan sedikit waktu-waktunya yang berharga untuk

membimbing penulis. Saran-saran serta kritik-kritik mereka sangat bermanfaat dalam merampungkan skripsi ini.

5. Ibu Eka Sukmawaty, S.Si., M.Si selaku pembahas I, dan Bapak Prof. Dr. H. Arifuddin Ahmad, M.Ag bselaku pembahas II.
6. Bapak dan Ibu dosen dalam jajaran Fakultas Sains dan Teknologi UIN Alauddin Makassar yang selama ini telah mendidik penulis dengan baik, sehingga penulis dapat menyelesaikan pendidikannya pada tingkat perguruan tinggi.
7. Bapak dan ibu pegawai Laboratorium Mikrobiologi Rumah Sakit Pendidikan Universitas Hasanuddin (RSP UNHAS) yang senantiasa membimbing selama penelitian berlangsung.
8. Kepada Kepala Laboratorium di Jurusan Biologi Ibu Eka Sukmawaty, S.Si., M.Si dan beserta staf Laboran Ibu Faridah Ahmad, S.Pd. Kepala Laboratorium Genetika dan Molekuler, Ibu Syamsidar, S.Si. Kepala Laboratorium Zoologi, Ibu Kurniati, S. Si., Kepala Laboratorium Mikrobiologi, Kak Zulkarnain, S.Si Kepala Laboratorium Botani yang senantiasa membimbing kami praktikum di Laboratorium selama perkuliahan berlangsung hingga penulis bisa menyelesaikan tugas akhirnya. Kepada Kak Ati Staf di Jurusan Biologi yang sangat membantu dalam penyelesaian tugas akhir penulis.
10. Kepada kedua orang tua saya, Ibu dan Ayah yang telah mendidik saya, memberikan motivasi, senantiasa memberikan semangat dan doa'nya. Sehingga penulis bisa menyelesaikan tugas akhir.

11. Kepada saudara dan saudari dari ibu dan ayah saya Tante, Paman, sepupu Maskurina dan nenek, yang senantiasa memberikan semangat dan do'a kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan tugas akhir.
12. Kepada Kak Yusuf Usman sebagai alumni biologi dan sebagai Staff laboratorium yang senantiasa telah meluangkan waktunya untuk membantu dan mengajari penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir.
13. Kepada Iqbal J yang senantiasa rela berkorban memberikan dukungan, motivasi, semangat, doa dan segala bantuan baik dari segi tenaga, pikiran dan lainnya sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir.
14. Kepada Julian Kristian Pemilik Anjing, yang sudah meluangkan waktu dan tenaganya untuk mengambilkan sampel air liur anjing, sehingga penulis bisa melakukan penelitian dan dapat menyelesaikan tugas akhir.
15. Saudara seperjuanganku Nurul Afriani Arif, Nirwana, Almik Agri Lestari dan Zulfiana Machmud yang senantiasa berjuang sama-sama, saling memberikan motivasi sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir.
16. Kepada teman se-Angkatan (LACTEAL) yang senantiasa memberikan semangat dan do'a kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan tugas akhir.
17. Adik-adik mahasiswa jurusan Biologi 2015, 2016, dan 2017 serta para senior Biologi.

18. Teman-teman KKN-57 di Kabupaten Bantaeng, Kecamatan Bissapu, khususnya di Kelurahan Bonto Sunggu yang selalu memberikan dukungan, motivasi, semangat, dan doanya sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhirnya.
19. Serta semua pihak yang telah membantu dalam penulisan tugas akhir ini yang tidak dapat dituliskan satu persatu.

Ucapan terima kasih juga penulis sampaikan kepada kepala perpustakaan UIN Alauddin Makassar beserta staf-stafnya sehubungan dengan pengumpulan bahan-bahan untuk membuat skripsi ini.

Pada kenyataannya, walaupun menerima banyak bantuan dari berbagai pihak, pada dasarnya yang bertanggung jawab terhadap tulisan ini adalah penulis sendiri. Terakhir penulis harus sampaikan penghargaan kepada mereka yang membaca dan berkenan memberikan saran, kritikan atau bahkan koreksi terhadap kekurangan dan kesalahan yang pasti masih terdapat dalam skripsi ini. Semoga dengan saran dan kritik tersebut, skripsi ini dapat diterima dikalangan pembaca yang lebih luas lagi di masa yang akan datang. Semoga karya yang sangat sederhana ini dapat bermanfaat bagi pembaca.

Samata, Juni 2018

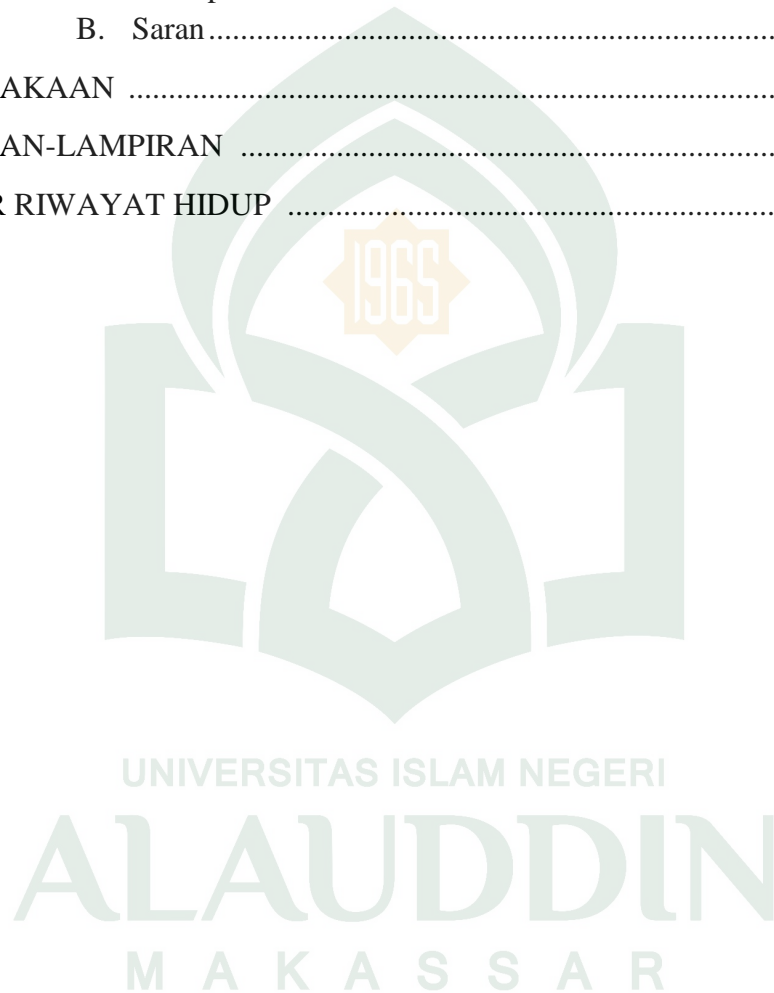


Fitria Ramadana
NIM: 60300114014

DAFTAR ISI

JUDUL	i
PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI	ii
PERSETUJUAN PEMBIMBING	iii
PENGESAHAN	iv
KATA PENGANTAR	v-ix
DAFTAR ISI	x-xi
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR ILUSTRASI	xiii
ABSTRAK	xiv
ABSTRACT	xv
BAB I PENDAHULUAN	1-9
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	6
C. Ruang Lingkup Penelitian	7
D. Kajian Pustaka / Penelitian Terdahulu.....	8
E. Tujuan Penelitian.....	9
F. Kegunaan Penelitian	9
BAB II TINJAUAN TEORITIS	10-36
A. Ayat dan Hadis yang Relevan	10-12
B. Identifikasi Molekuler.....	15
C. Tinjauan Umum Bakteri.....	27
D. Tinjauan Umum Anjing	31
E. Tinjauan Umum Golden Retriever.....	32
F. Tinjauan Umum Air Liur Anjing	34
G. Kerangka Pikir	36
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	37-44
A. Jenis dan Pendekatan Penelitian	37
B. Waktu dan Lokasi Penelitian.....	37
C. Variabel Penelitian	37
D. Definisi Operasional Variabel	37
E. Instrumen Penelitian (Alat dan Bahan)	38
F. Prosedur Kerja	39

BABIVHASIL DAN PEMBAHASAN	45-68
A. Hasil Penelitian	45
B. Pembahasan	50
BABVPENUTUP	69
A. Kesimpulan.....	69
B. Saran.....	69
KEPUSTAKAAN	70-75
LAMPIRAN-LAMPIRAN	76-87
DAFTAR RIWAYAT HIDUP	88



DAFTAR TABEL

Tabel 3.1 Komposisi Primer Mix	43
Table 4.1 Hasil analisis BLAST di NCBI.....	47-49



DAFTAR ILUSTRASI

Gambar 2.1 Kelenjar saliva pada anjing	35
Gambar 4.1 Hasil Elektroforesis dari Produk Amplifikasi	45
Gambar 4.2 Hasil squensing urutan basa sampel NoA.....	46
Gambar 4.3) Hasil squensing urutan basa sampel NoB.....	46



ABSTRAK

Nama : FITRIA RAMADANA
NIM : 60300114014
Judul Skripsi : IDENTIFIKASI MOLEKULER BAKTERI PADA SALIVA ANJING (*Canis lupus familiaris*) RAS GOLDEN RETRIEVER

Identifikasi molekuler melalui tiga tahap utama yaitu ekstraksi, amplifikasi dan elektroforesis. Penelitian ini menggunakan penelitian kualitatif dengan pendekatan eksploratif untuk mengetahui jenis bakteri pada saliva anjing (*Canis lupus familiaris*) ras Golden retriever. Penelitian ini menggunakan primer 16S rRNA. Analisis data sekuensing dilakukan dengan menggunakan program software DNA star. Untuk analisa *sequence alignment*, dilakukan dengan membandingkan sekuens yang diperoleh (*query*) dengan yang telah ada pada *Gene Bank* dengan *Database searches NCBI internet site* (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) menggunakan BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*). Hasil penelitian menunjukkan dari hasil analisis BLAST metode swab diperoleh beberapa jenis bakteri yaitu bakteri *Tepidimonas thermarum*, *Caldimonas manganoxidans*, *Tepidimonas taiwanensis*, *Caldimonas taiwanensis*, *Caldimonas sp*, *Tepidimonas sp*, *Tepidimonas fonticaldi* dan *Tepidimonas aquatic*. Bakteri ini semua termasuk dalam genus *Tepidimonas* dan merupakan bakteri termofilik. Adapun hasil analisis BLAST metode langsung diperoleh beberapa jenis bakteri yaitu bakteri *Pasteurellaceae bacterium*, *Bibersteinia trehalosi*, *Bibersteinia sp*, *Pasteurella trehalosi*, *Unrsidibacter maritimus*. Bakteri ini semua termasuk dalam genus *Pasteurella* dan merupakan bakteri patogen.

Kata kunci: *Identifikasi dan uji Molekuler, Golden Retriever, Bakteri Patogen saliva anjing (Canis lupus familiaris).*

ABSTRACT

Name: FITRIA RAMADANA
Student ID Number : 60300114014
Detitle Of Essay : IDENTIFICATION OF MOLECULAR BACTERIA
IN SALIVA DOG (*Canis lupus familiaris*) RAS
GOLDEN RETRIEVER

Molecular identification through three main stages of extraction, amplification and electrophoresis. This research uses qualitative research with explorative approach to know the type of bacteria in dog saliva (*Canis lupus familiaris*) Golden retriever race. This study used 16S rRNA primer. Analysis of sequencing data is done by using DNA star software program. For sequence alignment analysis, it is done by comparing the sequence obtained (query) with existing Gene Bank with NCBI internet site search database ([http // www.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov)) using BLAST (Basic Local Alignment Search Tool). The results of the research show that from analysisBLASTof swab method, there are several bacteria such as *Tepidimonas thermarum*, *Caldimonas manganoxidans*, *Tepidimonas taiwanensis*, *Caldimonas taiwanensis*, *Caldimonas* sp, *Tepidimonas* sp, *Tepidimonas fonticaldi* and *Tepidimonas aquatic*. These bacteria are all included in the genus *Tepidimonas* and are thermophilic bacteria. The results of BLAST analysis of direct method obtained by several types of bacteria namely bacteria *Pasteurellaceae bacteria*, *Bibersteinia trehalosi*, *Bibersteinia* sp, *Pasteurella trehalosi*, *Unrsidibacter maritimus*. These bacteria are all included in the genus *Pasteurella* and are pathogenic bacteria.

Keywords: *Molecular identification and test, Golden Retriever, Pathogenic bacteria saliva dog (Canis lupus familiaris).*

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Di kalangan masyarakat islam, anjing disinonimkan dengan perkataan najis besar (*mughalladzah*). Hal ini dijelaskan dalam Hadist nabi yang diriwayatkan oleh Abhuhurairah, Rasulullah saw. bersabda “jika anjing minum dalam bejanamu, maka harus dibasuh tujuh kali dengan air” sedangkan menurut riwayat Muslim “jika anjing telah menjilat bejanamu maka harus dibasuh tujuh kali salah satunya dengan tanah”. Para ulama umumnya menggolongkan anjing ke dalam jenis najis yang berat atau sering juga disebut dengan istilah najis *mughalladzah*. Tetapi terdapat perbedaan pendapat dikalangan ulama, Mazhab Al-Hanafiyah menyebutkan bahwa yang najis dari anjing adalah air liur, mulut, dan kotorannya. Mazhab Al-Malikiyah menyebutkan air liurnya saja yang najis, sedangkan Mazhab As-Syafi’ah dan Al-Hambali menyebutkan seluruh bagian tubuh anjing merupakan najis. Dalam al-Qur’an terdapat 6 perkataan anjing, dan sebagaimana dijelaskan dalam QS.al-Maidah/5: 4 yang berbunyi:

يَسْأَلُونَكَ مَاذَا أُحِلَّ لَهُمْ قُلْ أُحِلَّ لَكُمْ الطَّيِّبَاتُ وَمَا عَلَّمْتُم مِّنَ الْجَوَارِحِ
مُكَلِّبِينَ تَعْلَمُونَهُنَّ مِمَّا عَلَّمَكُمُ اللَّهُ فَكُلُوا مِمَّا أَمْسَكْنَ عَلَيْكُمْ وَاذْكُرُوا
أَسْمَ اللَّهِ عَلَيْهِ وَاتَّقُوا اللَّهَ إِنَّ اللَّهَ سَرِيعُ الْحِسَابِ ﴿٤﴾

Terjemahnya:

Mereka menanyakan kepadamu: "Apakah yang dihalalkan bagi mereka?". Katakanlah: "Dihalalkan bagimu yang baik-baik dan (buruan yang ditangkap) binatang buas yang Telah kamu ajar dengan melatih nya untuk berburu; kamu mengajarnya menurut apa yang Telah diajarkan Allah kepadamu. Maka makanlah dari apa yang ditangkapnya untukmu, dan sebutlah nama Allah atas binatang buas itu (waktu melepaskannya). dan bertakwalah kepada Allah, Sesungguhnya Allah amat cepat hisab-Nya (Kementerian Agama RI, 2012).

(Menurut Ibnu Katsir, 2004), Firman-Nya, "Dengan melatihnya untuk berburu, "mengandung kemungkinan bahwa kata ini sebagai *haal* (keterangan) dari *dhamiir* (kata ganti) dari kata *allamtm*, sehingga dengan demikian ia menjadi *haal* dari *faa'il* (pelakunya), dan mengandung kemungkinan juga sebagai *haal* dari *maf'uul* (obyeknya) yaitu *jawaarih*. Artinya, binatang-binatang buas yang kalian latih sehingga menjadi binatang-binatang yang terlatih untuk berburu, yaitu mereka akan menangkap buruannya dengan cakar-cakar atau kuku-kukunya.

Oleh karena itu umumnya masyarakat di Indonesia yang mayoritas umat muslim banyak yang tidak mau mendekati anjing, apalagi menyentuhnya. Anjing sebagai sesuatu yang najis, terkutip dalam hadits riwayat Muslim. Nabi Muhammad saw. bersabda "pencucian bejana seseorang di antara kalian jika terkena hirupan anjing adalah dicuci tujuh kali salah satunya dengan tanah" (HR. Muslim).

Ada sebagian ulama yang melarang pemeliharaan anjing dengan menggunakan dalil hadits yang diriwayatkan oleh Abu Daud "Malaikat tidak akan masuk ke rumah yang di dalamnya ada gambar patung dan anjing." Akan tetapi terdapat hadits sahih yang diriwayatkan oleh Imam Bukhari dan Imam Muslim yang menguatkan hadits ini "Barangsiapa memelihara anjing kecuali anjing

penjaga hewan ternak atau anjing pemburu, maka berkuranglah satu qirat dari amalnya setiap hari”.Dan ada juga hadits sahih riwayat Muslim yang menjadi penguat kepada hadits Abu Daud(para malaikat) tidak akan memasuki rumah yang di dalamnya ada anjing dan gambar patung” (HR. Muslim).

Air liur anjing dalam Agama Islam merupakan sesuatu yang hukumnya najisapabila terkena tubuh ataupun bejana, sehinga cara pensuciannya adalahmencucinya dengan air sebanyak 7 kali yang salah satu bilasannya harus diselingidengan tanah. Permasalahan yang didapat saat ini ialah tanah yang digunakanuntuk mensucikan tersebut belum tentu sepenuhnya bersih, bebas dari agen patogen.Anjing merupakan hewan kesayangan dan lazim dijumpai oleh masyarakat.Sering kali kita beranggapan bahwadari anjing yang dinajiskan adalah seluruh anggota badannya, padahal menurutadist riwayat Muslim dapat disimpulkan bahwa najisnya hanyalah air liurnya dananggota tubuhnya apabila basah.Hal inilah yang membuat kita sering kali tidak mauberdekatan dengan anjing apalagi menyentuhnya (Hakim Jeffry, 2008).

Secara garis besar, masalah anjing dalam fiqih islam terbagi menjadi duamasalah, yaitu; kalbun mu'allam (anjing yang terdidik) dan kalbun 'aqur (anjing liaratau tidak terdidik). Segala sesuatu yang bermanfaat dalam terminologi fiqih Islamdisebut harta kekayaan.Oleh karena itu sebagian ulama membolehkanpemanfaatan anjing terdidik untuk menjaga sawah, ladang, rumah,

pelacak, dijualbelikan dan segala bentuk pemanfaatan lainnya. Sedangkan anjing liar para ulamamelarang pemanfaatan dalam bentuk apapun

Pemeliharaan anjing terkecuali untuk keperluan seperti anjing pemburu, anjing penjaga binatang ternak dan tanaman dan sebagainya, dikecualikan dari hukum ini. Rasulullah Saw bersabda: “Barangsiapa memelihara anjing untuk berburu, menjaga tanaman, atau menjaga ternak, maka pahalanya berkurang setiap hari satu qirath.” (HR. Bukhari, muslim, Abu Dawud, Nasa’i Tirmidzi, Ibnu Majah, Ahmad)

Sebagai ulama fiqih berpendapat bahwa hadits ini menyatakan larangan memelihara anjing itu adalah larangan makruh, bukan larangan haram. Karena apabila haram maka terlarang memeliharanya dalam semua keadaan, baik mengurangi pahalanya maupun tidak.

Sebuah kisah Nabi Muhammad saw. menceritakan kepada para sahabat, ada seseorang yang menolong seekor anjing di padang luas karena anjing itu kehausan sehingga mengeluarkan lidahnya. Kemudian dia melepas sepatunya dan mengisinya dengan air di sumur lalu meminumkan anjing tersebut hingga hilang dahaganya. Menurut HR. Bukhari, Sabda Nabi saw. “Maka orang itu perlu bersyukur kepada Allah swt.berkat anjing tersebut, Allah swt. mengampuni dosa orang itu.

Jika untuk keperluan tertentu memelihara anjing itu hukumnya makruh, tidak berarti kita sebagai sesama makhluk hidup harus anti terhadap anjing.karena anjing juga ciptaan Allah swt.

Hubungan antara anjing dan manusia sudah berjalan lama.Salah satu permasalahan yang tengah dihadapi umat Islam saat ini adalah tentang memelihara

anjing. Mayoritas Umat Islam menganggap bahwa anjing adalah binatang yang najis dan haram dipelihara. Namun di samping itu, saat ini tidak sedikit masyarakat muslim yang memelihara anjing.

Berbagai macam penyakit yang berbahaya dapat ditularkan oleh anjing karena di dalam ususnya terdapat ulat-ulat yang tumbuh berkembang, sehingga berbahaya. Ulat ini keluar ketika anjing mengeluarkan kotorannya. Telur-telur itu akan pindah pada saat anjing menjilat pantatnya. Kemudian dari jilatan ini maka ulat tersebut akan berpindah ke tangan pemiliknya dan wadah. Sebagian ada yang masuk ke perut dan langsung ke pencernaan. Sehingga ulat itu keluar langsung dan bercampur dengan lendir dan darah pada manusia. Makanya kita dilarang berinteraksi dengan anjing, sebagaimana larangan riwayat muslim untuk menjaga diri dari anjing karena mengandung hikmah yang besar karena berbahaya.

Berbeda dengan anjing, kucing dalam islam dianggap bukan najis. Pada kulit kucing terdapat otot yang berfungsi untuk menolak telur bakteri. Dari beberapa penelitian yang telah dilakukan membuktikan kucing negatif berkuman. Kucing lebih bersih daripada manusia. Sisa makanan pada kucing hukumnya adalah suci, disamping itu kita diperbolehkan untuk wudhu menggunakan air bekas minum kucing karena dianggap suci. Pada zaman dahulu kucing dipakai untuk terapi. Dengkurun 50Hz yang dimiliki kucing sangat baik untuk kesehatan, selain itu dengan mengelus kucing juga bisa menurunkan tingkat stres.

Anjing banyak mengeluarkan air liur karena anjing tidak mempunyai kelenjar keringat, sehingga untuk mengatur suhu tubuhnya anjing menurunkan panas

tubuhnya dengan memproduksi air liur lebih banyak. Kelenjar saliva terbagi menjadi 2 bagian yaitu kelenjar saliva mayor (*parotid*, *mandibularis*, *sublingual*, dan *zygomaticus*), dan kelenjar saliva minor yang terdapat di daerah *ventral buccalis* (Peter 1997).

Fungsi dari air liur pada setiap spesies berbeda, umumnya air liur berfungsi sebagai pelumat makanan menjadi bolus agar mudah dicerna, membasahi makanan, anti bakteri, mencerna polisakarida (*alpha amylase*), menetralkan asam dari makanan atau regurgitasi asam lambung dan pada anjing air liur berfungsi untuk mengeluarkan hawa panas dalam tubuhnya (Sjuhada, 2006).

Oleh karena itu berdasarkan hal tersebut di atas penelitian ini penting dilakukan karena berdasarkan ayat dan teori diatas telah dijelaskan bahwa memelihara anjing menurut pandangan islam diharamkan kecuali jika untuk keperluan seperti sebagai hewan pemburu, selain itu anjing dapat membawa beberapa benih penyakit, sehingga saya melakukan penelitian ini. Maha Kuasa Allah swt. atas segala ciptaannya.

B. Rumusan Masalah

Adapun rumusan masalah pada penelitian ini adalah apakah jenis bakteri patogen yang terdapat pada saliva anjing (*Canis lupus familiaris*) ras Golden retriever?

C. Ruang lingkup Penelitian

Adapun ruang lingkup pada penelitian ini adalah:

1. Anjing (*Canis lupus familiaris*) ras Golden retriever adalah anjing rumahan yang diperoleh di Minasaupa Gunung Sari, Rappocini kota Makassar, Sulawesi Selatan.
2. Umur anjing (*Canis lupus familiaris*) ras Golden retriever 5 tahun 8 bulan, jenis kelamin jantan, makanan berupa bakso dan tulang ayam, kondisi rumah bersih dan terawat, tidak dikandang dibiarkan berkeliaran keluar masuk rumah dan biasa tidur dengan pemilik anjing, sampel yang diambil hanya 1 ekor anjing.
3. Sampel air liur diperoleh dengan metode swab Hakim Jeffry (2008) dan metode langsung menggunakan pot sampel sebanyak 5 ml. Menggunakan 2 metode pengambilan sampel agar bisa dibandingkan metode yang paling baik dalam pengambilan sampel air liur anjing, dan untuk melihat bakteri yang diperoleh dari kedua metode yang digunakan.
4. Identifikasi molekuler merupakan pengujian yang dilakukan untuk mengetahui secara pasti spesies bakteri yang terdapat pada air liur anjing dengan menggunakan metode uji PCR (*Polymerase Chain Reaction*).
5. Primer 16s rRNA merupakan hal yang penting dalam proses translasi, salah satu bagian penyusun dari 30S. Primer 16s rRNA merupakan suatu jenis RNA yang terlibat dalam memproduksi protein.

D. Kajian Pustaka / Penelitian Terdahulu

Adapun penelitian terdahulu adalah sebagai berikut:

1. Pada penelitian sebelumnya bakteri pada air liur anjing sudah diteliti oleh Kikuchi dkk (2004). Kikuchi dkk menggunakan metode uji molekuler dengan analisis elektroforesis untuk mengidentifikasi bakteri *Staphylococcus intermedius* yang menyebabkan infeksi pada rongga mastoid manusia setelah anjing peliharaan menjilat telinga pasien.

2. Air liur anjing sebelumnya pernah diteliti oleh Hakim Jeffry (2008) mahasiswa dari Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor. Penelitian yang dilakukan untuk membuktikan daya antimikroba tanah terhadap air liur anjing dengan menggunakan produk sabun dari tanah. Metode yang digunakan dalam identifikasi bakteri tanah dan air liur anjing dilakukan dengan pembiakan pada NA, pembiakan pada agar darah, uji gram, uji KOH 3%, uji katalase, uji oksidase, uji sitrat dan uji motilitas. Pembacaan hasil dengan menggunakan media Indol, Urea dan Sitrat. Uji daya antimikroba bakteri tanah terhadap air liur anjing dengan menggunakan metode uji *Antibiogram Kirby Bauer*, dengan cara inokulasi, suspensi, dan inkubasi. Pembuatan sabun tanah dengan konsentrasi yang berbeda. Penelitian ini menggunakan anjing yang berbeda dari segi umurnya dan pemberian makan yang bervariasi setiap harinya.

3. Bakteri pada anjing (*Canis lupus f*) ras Golden retriever sebelumnya pernah diteliti oleh Duncan dkk (2008). Penelitian yang dilakukan adalah DNA *Bartonella* yang terdapat di dalam darah dan kelenjar getah bening Golden Retriever.

4. Air liur anjing sebelumnya pernah diteliti oleh Fekadu dkk (1981). Fekadu melakukan penelitian ini dengan menginokulasi virus rabies dari air liu anjing Etiopia. Kemudian virus rabies diuji cobakan pada tikus.

E. Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui jenis bakteri patogen yang terdapat pada saliva anjing (*Canis lupus familiaris*) ras Golden Retriever.

F. Kegunaan Penelitian

Adapun kegunaan atau manfaat dari penelitian ini yaitu manfaat yang diharapkan penelitian ini adalah:

1. Penulis dapat menambah wawasan dari segi pengetahuan tentang bakteri yang terdapat pada saliva anjing (*Canis lupus familiaris*) ras Golden Retriever.
2. Sebagai bahan acuan atau referensi untuk penelitian selanjutnya.

BAB II

TINJAUAN TEORITIS

A. Ayat dan Hadits yang Relevan

1. Ayat yang Relevan

Allah swt. telah menciptakan bumi dan seluruh isinya yaitu makhluk hidup seperti bakteri yang terdapat pada air liur anjing (*Canis lupus familiaris*), sebagaimana telah dijelaskan juga dalam firman Allah QS. al-Imran/3: 190-191 yang berbunyi:

إِنَّ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ وَاخْتِلَافِ اللَّيْلِ وَالنَّهَارِ لَآيَاتٍ لِأُولِي الْأَلْبَابِ ﴿١٩٠﴾ الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَمًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هَذَا بَطْلًا سُبْحَنَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ ﴿١٩١﴾

Terjemahnya:

Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi, dan silih bergantinya malam dan siang terdapat tanda-tanda bagi orang-orang yang berakal, (yaitu) orang-orang yang mengingat Allah swt, sambil berdiri atau duduk atau dalam keadaan berbaring dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi (seraya berkata): "Ya Tuhan kami, tiadalah Engkau menciptakan ini dengan sia-sia, Maha Suci Engkau, Maka peliharalah Kami dari siksa neraka (Kementerian Agama RI, 2012).

Menurut (Tafsir Ibnu Katsir Jilid 3, 2004), bahwa Allah swt. berfirman, "Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi." Artinya, yaitu pada ketinggian dan kekuasaan langit dan juga pada kerendahan bumi serta kepadatannya. Dan juga tanda-tanda kekuasaan-Nya yang terdapat pada ciptaan-Nya yang dapat dijangkau oleh indera manusia pada keduanya (langit dan bumi), baik yang berupa; bintang-bintang; komet; daratan dan lautan; pegunungan; dan pepohonan, tumbuh-tumbuhan,

tanaman, buah-buahan, binatang, barang tambang, serta berbagai macam warna dan aneka ragam makanan dan bebauan, “Dan silih Bergantinya malam dan siang.” Yaitu mereka yang mempunyai akal yang sempurna lagi bersih, yang mengetahui hakikat banyak hal secara jelas dan nyata. Mereka bukan orang-orang tuli dan bisu yang tidak berakal. Allah saw. berfirman tentang mereka, “Dan banyak sekali tanda-tanda (kekuasaan Allah) di langit dan di bumi yang mereka memulainya, sedang mereka berpaling dari padanya. Dan sebahagian besar dari mereka tidak beriman kepada Allah, melainkan dalam keadaan mempersekutukan Allah (dengan sembahsan-sembahan lain).” (QS. Yusuf 105-106) kemudian Allah swt. menyifatkan tentang Uulul Albaab, firman-Nya, “yaitu orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri atau duduk atau dalam keadaan berbaring.”

Sebagaimana hadits yang diriwayatkan Imam al-Bukhari dan Imam Muslim dari Imran bin Hushain, bahwa Rasulullah saw. bersabda: “Shalatlah dengan berdiri, jika kamu tidak mampu, maka lakukanlah sambil berbaring.”

Maksudnya, mereka tidak putus-putus berdzikir dalam semua keadaan, baik dengan hati maupun dengan lisan mereka. “Dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi.

Ayat ini menjelaskan bahwa dalam penciptaan langit dan bumi, dan silih bergantinya malam dan siang terdapat tanda-tanda bagi orang yang berakal. Tidak ada yang diciptakan Allah swt. dengan sia-sia. Contohnya anjing memiliki manfaat walaupun di kalangan ummat Muslim dilarang untuk bersentuhan dengan anjing tetapi bisa diteliti terutama di bidang ilmu Biologi contohnya binatang-binatang yang

tidak terlihat dengan kasat mata contohnya bakteri patogen yang terdapat pada air liur anjing, sehingga perlu untuk diteliti. Maka Maha besar dan Maha Kuasa Allah swt. atas segala ciptaannya di muka bumi ini.

2. Hadis

Hadis nabi merupakan landasan ajaran kedua setelah al-Qur'an. Selain sebagai penjelas al-Qur'an, hadis terkadang mengkhususkan makna ayat al-Qur'an yang masih bersifat umum. Serta menjadi penguat terhadap hukum-hukum yang terkandung di dalam al-Qur'an. Salah satu permasalahan yang tengah dihadapi umat Islam saat ini adalah tentang memelihara anjing. Mayoritas umat Islam menganggap bahwa anjing adalah binatang yang haram dipelihara. Namun di samping itu, saat ini tidak sedikit masyarakat muslim yang memelihara anjing (al-Bukhari).

Di dalam hadis cukup banyak pembahasan yang berkaitan dengan anjing. Para ulama klasik berbeda pendapat dalam memahami hadits-hadits tentang memelihara anjing. Pemahaman tersebut tentunya tidak terlepas dari beragam cara yang mereka gunakan dalam memahami hadis sehingga menghasilkan hukum sesuai ijtihad mereka masing-masing yang kemudian menghasilkan perbedaan sikap dan perilaku terhadap binatang tersebut. Di dalam hal ini ulama fiqh sebagai pemegang porsi paling besar dalam membahas masalah memelihara anjing. Hal tersebut bermula dari pemahaman mereka tentang najis atau tidaknya tubuh anjing. Sedangkan di dalam hadits, cukup banyak pembahasan yang berkaitan dengan anjing. Para ulama klasik berbeda pendapat dalam memahami hadis-hadis tentang memelihara anjing.

Pemahaman tersebut tentunya tidak terlepas dari beragam cara yang mereka gunakan dalam memahami hadis sehingga menghasilkan hukum sesuai ijtihad mereka masing-masing yang kemudian menghasilkan perbedaan sikap dan perilaku terhadap binatang tersebut.

Dalam agama islam, beberapa mazhab fiqih menganggap anjing sebagai hewan yang najis. Salah satu buktinya adalah kewajiban untuk membasuh benda yang dijilat oleh anjing, apa pun warnanya, sebanyak tujuh kali, di mana salah satunya mesti dicampur dengan tanah (debu). Hadis di bawah ini menjelaskan hukum tersebut.

أَنَّ أَبِي هُرَيْرَةَ قَالَ قَالَ رَسُولُ اللَّهِ صَلَّى اللَّهُ عَلَيْهِ وَسَلَّمَ طُهُوْا رَأْيَا نَاءً أ .
 حَدِّثْكُمْ إِذَا وَلَغَ فِيهِ الْكَلْبُ أَنَّ يَغْسِلُهُ سَبْعَ مَرَّاتٍ أَوْ لَا هُنَّ بِالتَّرَابِ
 (رواه مسلم)

Artinya:

Bersihnya bejana salah seorang dari kamu sekalian apabila dijilati oleh anjing adalah dengan ia mencucinya sebanyak tujuh kali, salah satu (cuciannya) menggunakan tanah (HR. Muslim).

Mengenai berapa kali basuhan, yang mesti dicampur dengan debu, ada banyak versi, ada yang hanya mengharuskan satu kali, tiga kali, lima kali, bahkan ada pula yang tidak mengharuskan campuran tersebut sama sekali. Perintah ini nyata-nyata memeplihatkan bahwa anjing dalam hal ini air liur anjing tidak steril, dan mengandung kotoran atau penyakit. Karena itu, wajar apabila kita dianjurkan untuk

mencuci objek yang dijilatnya sebersih mungkin sebelum digunakan untuk keperluan manusia (Badan Litbang, 2012).

Dalam hadis berikut Rasulullah mengingatkan bahwa pemilik anjing akan dikurangi pahalanya setiap hari, kecuali jika dimanfaatkan untuk menjaga ternak, lahan atau untuk berburu.

أَنَّ أَبِي هُرَيْرَةَ رَضِيَ اللَّهُ عَنْهُ قَالَ قَالَ رَسُولُ اللَّهِ عَلَيْهِ وَسَلَّمَ مَنْ أَمْسَكَ
كَلْبًا فَإِنَّهُ يَنْقُصُ كُلَّ يَوْمٍ مِنْ عَمَلِهِ قِيرَاطًا إِلَّا كَلْبًا حَزَّ ثَوْءًا مَا شِئَةٍ
(رواه مسلم)

Artinya:

Barang siapa yang memelihara anjing, maka pahalanya akan dikurangi satu qirath setiap harinya, terkecuali anjing untuk berburu, menjaga tanaman an ternak (HR. Muslim).

Para ulama memperbolehkan seseorang memelihara anjing untuk keperluan membantu manusia dalam pertanian, peternakan, atau perburuan, namun tidak untuk keperluan mencari kesenangan belaka. Beberapa ilmuwan mencoba merasionalkan hal ini dengan melihatnya sebagai hewan yang membahayakan keselamatan orang di sekitarnya. Akan tetapi, hal lain yang menonjol dalam perlakuan ini adalah bahwa anjing dianggap najis karena kotor (tubuh dari air liurnya) bagi mereka akan melakukan ritual keagamaan. Kenajisan anjing sudah cukup menjadi alasan bagi seseorang untuk tidak memeliharanya, kecuali ada keperluan lain yang mendesak (Badan Litbang, 2012).

B. Identifikasi Molekuler

Setiap tahunnya penelitian yang berbasis genetika molekuler semakin berkembang pesat. Sejak penemuan Watson Crick tentang DNA (*Deoxyribonucleic acid*) heliks ganda, sejak itu para peneliti semakin tergugah untuk membuka cakrawala baru di bidang genetika molekuler, diantaranya rekayasa genetika dan teknik manipulasi gen, perkembangan kultur sel terutama kultur *stem cell*, *knockout* dan hewan transgenik bertujuan untuk lebih mengetahui fungsi sel itu sendiri, dan penemuan-penemuan enzim restriksi (Fatchiyah dkk, 2011: 9).

DNA adalah molekul penyusun kromosom yang tersusun atas gula pentosa, basa nukleotida, dan deoksiribosa. Urutan nukleotida DNA terdiri daerah yang mengkode gen yang disebut sebagai ekson, *variabel number tandem repeat* (VNTR), *sequence tagged site* (STS), *single nucleotide polymorphism* (SNP), daerah bukan pengkode (*non-coding*) DNA yang disebut intron, regulator gen, telomer, dan daerah urutan berulang seperti mikrosatelit (Fatchiyah, 2011:2).

DNA merupakan molekul utama kehidupan. Instruksi untuk mengatur sel agar tumbuh dan membelah diri diberi kode DNA. Struktur DNA membawa informasi hereditas yang menentukan struktur protein (James dkk, 1983).

Menurut Charles Darwin dalam teori evolusinya kembali mengulas secara lugas tentang seleksi alam selama proses evolusi berlangsung. Selain karena adanya seleksi alam akibat lingkungan yang berubah pada saat tahap evolusi berjalan tetapi

juga diakibatkan oleh perubahan di tingkat seluler ataupun molekuler dari suatu organism. Ekspresi dari protein, baik fungsi ataupun struktur protein bisa berubah akibat mutasi dipengaruhi oleh mutasi pada urutan DNA tersebut. Molekul DNA sebagai pembawa materi genetik bagi hampir semua makhluk hidup kecuali beberapa virus. DNA diterjemahkan dalam bentuk mRNA kemudian pada proses translasi untuk produksi protein yang fungsional. Segitiga trinitas genetik molekuler terdiri dari DNA, RNA dan protein yang telah kita kenal sebagai dogma sentral (Fatchiyah, 2011).

Struktur molekul DNA pertama kali diungkapkan oleh James Watson dan Francis Crick pada tahun 1953 berdasarkan atas foto difraksi sinar X yang dibuat oleh Rosalind Franklin dan Maurice Wilkins. Berdasarkan atas data kimia dan fisik, Watson dan Crick membuat model struktur DNA yang disebut untai ganda (*double helix*). Untai ganda DNA tersusun oleh dua rantai polinukleotida yang berpilin, yang mempunyai orientasi yang berlawanan (antiparalel) (Fatchiyah, 2011).

Penemuan awal teknik PCR (*Polymerase Chain Reaction*) didasarkan pada tiga waterbath yang mempunyai suhu yang berbeda. *Gene cyclers* pertama kali dipublikasikan pada tahun 1986, akan tetapi DNA polymerase awalnya digunakan masih belum termostabil, dan harus ditambahkan pada setiap siklusnya. Kelemahan lainnya yaitu pada suhu 37° C yang biasa digunakan dan menyebabkan *nonspecific priming* atau pengenalan pada urutan yang tidak tepat sehingga menghasilkan produk yang tidak dikehendaki (Fatchiyah, 2011).

PCR adalah teknik sintesis dan amplifikasi DNA secara *in vitro*. Kary B. Mullis dan F. Faloona sekitar tahun 1985 menemukan teknik PCR. PCR didasarkan pada amplifikasi enzimatik fragmen DNA dengan menggunakan dua oligonukleotida primer yang komplementer dengan ujung 5' dari kedua untai sekuensi target. Oligonukleotida ini digunakan sebagai primer (primer PCR) untuk memungkinkan DNA template disalin oleh DNA polymerase (Nasir, 2002).

Proses PCR merupakan proses siklus yang berulang, denaturasi, *annealing* adalah langkah pengenalan primer ke pita DNA yang sesuai, ekstraksi oleh enzim DNA polymerase. Sepasang primer oligonukleotida yang spesifik digunakan untuk membuat hibrid dengan ujung-5' menuju ujung 3' untai DNA target dan mengamplifikasi untuk urutan yang diinginkan (Fachiyah, 2011).

PCR adalah teknik perbanyakan DNA secara *in vitro*. Teknik dari PCR memungkinkan adanya amplifikasi antara dua region DNA region yang diketahui, hanya di dalam tabung reaksi, tanpa perlu memasukkannya ke dalam sel (*in vivo*). Dalam system kerjanya, PCR dilandasi oleh struktur DNA. Dalam keadaan nativenya, DNA merupakan *double helix*, yang terdiri dari dua buah pita yang berpasangan antiparalel antara satu dengan yang lain dan berikatan dengan ikatan hydrogen. Ikatan hydrogen terbentuk antara basa-basa komplementer, yaitu antara basa *Thymine* (T) dengan *Adenin* (A), dan *Cytosin* (C) dengan *Guanine* (G). Basa-basa ini terikat dengan molekul gula, deoksiribosa, dimana setiap satu molekul gula akan berikatan dengan molekul gula yaitu melalui ikatan fosfat (Shabarni, 2007).

PCR digunakan untuk penggandaan jumlah molekul DNA pada target tertentu dengan cara mensintesis molekul DNA baru yang berkomplemen dengan molekul DNA target tersebut melalui bantuan enzim dan oligonukleotida sebagai primer dalam suatu *thermocycle*. Panjang target DNA berkisar antara puluhan sampai ribuan nukleotida yang posisinya diapit sepasang primer. Primer yang berada sebelum daerah target disebut primer *forward* dan yang berada setelah target disebut *reverse*. Enzim yang digunakan sebagai pencetak rangkaian molekul DNA yang baru dikenal disebut enzim *polymerase*. Untuk dapat mencetak rangkaian tersebut dalam teknik PCR, diperlukan juga dNTPs yang mencakup dATP, dCTP, dGTP, dan dTTP (Muladno, 2010).

Adapun komponen dalam proses PCR yaitu terbagi atas templat DNA, sepasang primer yaitu suatu oligonukleotida pendek yang mempunyai urutan nukleotida yang komplementer dengan urutan nukleotida DNA templat, dNTPs (*Deoxynucleotide triphosphate*), buffer PCR, magnesium klorida ($MgCl_2$) dan enzim *polymerase* DNA. Dalam proses PCR ada beberapa tahap yaitu: (1) pra-denaturasi DNA templat, (2) denaturasi DNA templat, (3) penempelan primer pada templat (*annealing*), (4) pemanjangan primer (*extension*) dan (5) pemantapan (*postextension*). Tahap (2) sampai dengan (4) merupakan tahapan berulang (siklus), di mana pada setiap siklus terjadi duplikasi jumlah DNA (Darmo, 2001).

Ada tiga tahapan siklus temperatur yang terlibat dalam proses PCR secara berurutan yaitu denaturasi DNA (94-95°C, *annealing* (penempelan) pasangan primer

pada untai ganda DNA target ($50-60^{\circ}\text{C}$) dan pemanjangan (72°C) (Retroningrum, 2001).

Menurut Muladno (2002), Gaffar (2007) dan Sulistyaningsih (2007), ada beberapa tahapan yang terjadi pada proses PCR:

a. Denaturasi

Pada tahap denaturasi, DNA untai ganda akan membuka menjadi dua untai tunggal. Hal ini disebabkan karena suhu denaturasi yang tinggi menyebabkan putusnya ikatan hydrogen diantara basa-basa yang komplemen. Pada tahap ini, seluruh reaksi enzim tidak berjalan (Gaffar, 2007).

Denaturasi biasanya dilakukan antara suhu $90-95^{\circ}\text{C}$ selama 3 menit untuk meyakinkan bahwa molekul DNA yang ditargetkan ingin dilipatgandakan jumlahnya benar-benar telah terdenaturasi menjadi untai tunggal. Untuk denaturasi berikutnya, waktu yang diperlukan hanya 30 detik pada suhu 95°C atau 15 detik pada suhu 97°C (Muladno, 2010).

Suhu denaturasi dipengaruhi oleh sekuen target. Jika sekuen target kaya akan G-C maka diperlukan suhu yang lebih tinggi. Suhu denaturasi yang terlalu tinggi dan waktu denaturasi yang terlalu lama mengakibatkan hilangnya atau berkurangnya aktivitas enzim *Taq polymerase*. Waktu paruh aktivitas enzim tersebut adalah >2 jam pada suhu 92.5°C , 40 menit pada suhu 95°C dan 5 menit pada suhu 97.5°C (Muladno, 2010 dan Sulistyaningsih, 2007).

b. *Annealing* (penempelan primer)

Pada tahap penempelan primer (*annealing*), primer akan menuju daerah yang spesifik yang komplemen dengan urutan primer. Pada suhu *annealing* ini, ikatan hidrogen akan terbentuk antara primer dengan urutan komplemen pada *template*. Tahap ini biasanya terjadi pada suhu antara 50-60°C. Spesifitas PCR sangat tergantung pada suhu *melting* (T_m) primer, yaitu suhu dimana separuh jumlah primer menempel pada *template*. Temperatur penempelan yang digunakan biasanya 5°C di bawah T_m , dimana formula untuk menghitung $T_m = 4^\circ\text{C} (G+C) + 2^\circ\text{C} (A+T)$. Semakin panjang ukuran primer, semakin tinggi temperaturnya (Muladno, 2010).

Selanjutnya, DNA *polymerase* akan berikatan sehingga akan menjadi sangat kuat dan tidak akan putus kembali apabila dilakukan reaksi polimerisasi selanjutnya (Gaffar, 2007).

Suhu dan lamanya waktu yang dibutuhkan untuk *annealing* primer juga tergantung pada komposisi basa, panjang, dan konsentrasi primer (Sulistyaningsih, 2007).

c. Reaksi Polimerisasi (*Extention*)

Pada umumnya, reaksi ini terjadi pada suhu 72°C karena merupakan suhu optimum *Taqpolymerase*. Penempelan primer tadi akan mengalami perpanjangan pada sisi 3'-nya dengan penambahan dNTP yang komplemen dengan *template* oleh DNA *polymerase* (Gaffar, 2007).

Diperkirakan antara 35 sampai 100 nukleotida per detik pada suhu 72°C kecepatan penyusunan nukleotida oleh enzim tersebut, bergantung pada konsentrasi

garam, *buffer*, molekul DNA target dan pH. Dengan demikian, untuk produk PCR sepanjang 2000 pasang basa, waktu 1 menit sudah lebih dari cukup untuk tahap pemanjangan primer ini. Biasanya di akhir siklus PCR, waktu yang digunakan untuk tahap ini diperpanjang sampai 5 menit, sehingga seluruh produk PCR diharapkan berbentuk DNA untai ganda (Muladno, 2010).

Menurut Muladno (2010), Gaffar (2007), dan sulistyaningsih (2007), ada beberapa komponen penting yang dibutuhkan dalam reaksi PCR yaitu:

1) DNA *Template*

DNA *Template* adalah molekul DNA untai ganda yang mengandung sekuen target yang akan diamplifikasi. Ukuran DNA bukan merupakan faktor utama keberhasilan PCR, berapapun panjangnya jika tidak mengandung sekuen yang diinginkan maka tidak akan berhasil proses suatu PCR, namun sebaliknya jika ukuran DNA tidak terlalu panjang tapi mengandung sekuen yang diinginkan maka PCR akan berhasil.

Konsentrasi DNA juga dapat mempengaruhi keberhasilan PCR. Jika konsentrasinya terlalu rendah maka primer mungkin tidak dapat menemukan target dan jika konsentrasi terlalu tinggi akan meningkatkan kemungkinan *mispriming*. Disamping itu perlu diperhatikan kemurnian *template* karena akan mempengaruhi hasil reaksi.

2) Primer

Susunan primer merupakan salah satu kunci keberhasilan PCR. Pasangan primer terdiri dari 2 oligonukleotida yang mengandung 18-28 nukleotida dan

mempunyai 40-60% GC *content*. Sekuen primer lebih pendek akan memicu amplifikasi produk PCR non spesifik. Ujung 3' primer penting dalam menentukan spesifisitas dan sensitivitas PCR. Ujung ini tidak boleh mempunyai 3 atau lebih basa G atau , karena dapat menstabilisasi *annealing* primer non spesifik. Disamping itu ujung 3' kedua primer tidak boleh komplementer satu dengan yang lain, karena hal ini akan mengakibatkan pembentukan primer-primer yang akan menurunkan hasil produk yang diinginkan. Ujung 5' primer tidak terlalu penting untuk *annealing primer* sehingga memungkinkan untuk menambahkan sekuen tertentu. Misalnya sisi restriksi enzim, *start codon* ATG atau sekuen *promoter*. Konsentrasi primer biasanya optimal pada 0.1-0.5 μM .

Konsentrasi primer yang terlalu tinggi akan menyebabkan *mispriming* (penempelan pada tempat yang tidak spesifik) dan akumulasi produk non spesifik serta meningkatkan kemungkinan terbentuk primer-dimer, sebaliknya bila konsentrasi primer terlalu sedikit maka PCR menjadi tidak efisien sehingga hasilnya rendah.

3) DNA *polymerase*

DNA *polymerase* adalah enzim yang mengkatalisis *polymerase* DNA. Dalam perkembangannya, kini banyak digunakan enzim Taq DNA *polymerase* yang memiliki keaktifan pada suhu tinggi sehingga penambahan enzim tidak perlu dilakukan disetiap siklus dan proses. PCR dapat dilakukan dalam satu mesin (Gaffar, 2007).

Enzim *Taq DNA polymerase* terdiri atas dua macam yaitu enzim alami yang diisolasi dari sel bakteri *Thermus aquaticus* dan enzim rekombinan yang disintesis di dalam sel bakteri *Eschericia coli* (Muladno, 2010).

Enzim ini masih mempunyai aktivitas eksonuklease dari 5' ke 3' tetapi tidak mempunyai aktivitas eksonuklease dari 3' ke 5'. Konsentrasi enzim yang dibutuhkan untuk PCR biasanya 0.5-2.5 unit. Kelebihan jumlah enzim mengakibatkan akumulasi produk non spesifik, sedangkan jika terlalu rendah maka dihasilkan sedikit produk yang diinginkan (Sulistyaningsih, 2007).

4) *Deoxynucleotide Triphosphate* (dNTP)

Deoxynucleotide Triphosphate (dNTP) merupakan material utama untuk sintesis DNA dalam proses PCR yang terdiri dari dATP, dGTP, dCTP, dan dTTP. Konsentrasi dNTP masing-masing sebesar 20-200 μM dapat menghasilkan keseimbangan optimal antara hasil, spesifisitas dan ketepatan PCR. Konsentrasi masing-masing dNTP harus seimbang untuk meminimalkan kesalahan penggabungan.

Deoxynucleotide Triphosphate akan menurunkan Mg^{2+} bebas sehingga mempengaruhi aktivitas polymerase dan menurunkan *annealing* primer. Konsentrasi dNTP yang rendah akan meminimalkan *mispriming* pada daerah non target dan menurunkan kemungkinan perpanjangan nukleotida yang salah. Oleh Karena itu spesifitas dan ketepatan PCR meningkat pada konsentrasi dNTP yang lebih rendah (Sulistyaningsih, 2007).

5) Larutan *buffer*

Larutan *buffer* yang biasa digunakan untuk reaksi PCR mengandung 10 mM Tris-HCl pH 8.3, 5.0 mM KCl, dan 1.5 mM MgCl₂. Optimalisasi konsentrasi ion Mg²⁺ merupakan hal yang penting (Sulistyaningsih, 2007).

Pada tahapan PCR DNA templat berfungsi sebagai cetakan untuk membentuk molekul DNA baru yang sama. Templat DNA ini dapat berupa DNA kromosom, DNA plasmid ataupun fragmen DNA. Apapun asal di dalam DNA templat tersebut mengandung fragmen DNA target yang dituju. Penyiapan DNA templat untuk proses PCR dapat dilakukan dengan menggunakan metode lisis sel ataupun dengan cara melakukan isolasi DNA kromosom atau DNA plasmid dengan menggunakan metode standar yang ada. Pemilihan metode yang digunakan di dalam penyiapan DNA templat tergantung dari tujuan eksperimen. Dengan menggunakan teknik PCR, panjang fragmen DNA yang dapat diamplifikasi mencapai 35 kilo basa. Amplifikasi fragmen DNA pendek (kurang dari tiga kilo basa) relatif lebih mudah dilakukan. Untuk mengamplifikasi fragmen DNA panjang (lebih dari tiga kilo basa) memerlukan beberapa kondisi khusus, di antaranya adalah diperlukan *polymerase* DNA dengan aktivitas yang kuat dan juga buffer PCR dengan pH dan kapasitas tinggi (*High-salt buffer*) (Darmo, 2001).

Elektroforesis adalah proses bergeraknya molekul bermuatan pada suatu medan listrik. Kecepatan molekul yang bergerak pada medan listrik bergantung pada muatan, bentuk dan ukuran. Dengan demikian, elektroforesis dapat digunakan untuk pemisahan makromolekul (seperti protein dan asam nukleat). Posisi molekul yang

memisah pada gel dapat dideteksi dengan pewarnaan atau autoradiografi, ataupun dilakukan kuantifikasi dengan densitometer (Fatchiyah, 2011).

Elektroforesis gel didasarkan pada pergerakan bermuatan dalam media penyangga matriks stabil dibawah pengaruh medan listrik. Media yang umum digunakan adalah gel agarosa atau poriakrilamid. Elektroforesis gel agarosa digunakan untuk memisahkan fragmen DNA yang berukuran lebih besar dari 100 bp dan dijalankan secara horizontal, sedangkan elektroforesis akrilamid dapat memisahkan 1 bp dan dijalankan secara vertical. Elektroforesis poriakrilamid biasanya digunakan untuk menentukan urutan DNA atau sekuensing (Gaffar, 2007).

Sebelum proses elektroforesis, dilakukan pencampuran antara DNA dengan *loading dye*. *Loading dye* terdiri atas *glycerol*, *bromphenolblue*, dan *xylene cyanol FF*. *Glycerol* berfungsi sebagai pemberat sehingga DNA berada di bawah permukaan, sedangkan *bromphenolblue* dan *xylene cyanol FF* berfungsi sebagai visualisasi pada gel sehingga proses migrasi DNA pada saat berlangsungnya elektroforesis tidak melebihi batas gel (Carson, 2006).

DNA templat di dalam proses PCR berfungsi sebagai cetakan untuk membentuk molekul DNA baru yang sama. Templat DNA ini dapat berupa DNA kromosom, DNA plasmid ataupun fragmen DNA. DNA templat tersebut mengandung fragmen DNA target yang dituju. Penyiapan DNA templat untuk proses PCR dapat dilakukan dengan menggunakan metode lisis sel ataupun dengan cara melakukan isolasi DNA kromosom atau DNA plasmid dengan menggunakan metode standar yang ada. Pemilihan metode yang digunakan dalam penyiapan DNA templat

tergantung dari tujuan eksperimen. Dengan menggunakan teknik PCR, panjang fragmen DNA yang dapat diamplifikasi mencapai 35 kilo basa. Amplifikasi fragmen DNA pendek (kurang dari tiga kilo basa) relatif lebih mudah dilakukan. Untuk mengamplifikasi fragmen DNA panjang (lebih besar dari tiga kilo basa) memerlukan beberapa kondisi khusus, di antaranya adalah diperlukan *polymerase* DNA dengan aktivitas yang kuat dan juga *buffer* PCR dengan pH dan kapasitas tinggi (*High-salt buffer*) (Darmo, 2001).

Menurut Muladno (2010), kecepatan migrasi DNA ditentukan oleh beberapa faktor di antaranya:

- 1) Ukuran molekul DNA

Migrasi molekul DNA berukuran besar lebih lambat daripada migrasi molekul berukuran kecil.

- 2) Konsentrasi agarosa

Migrasi molekul DNA pada gel berkonsentrasi lebih rendah lebih cepat daripada migrasi molekul DNA yang sama pada gel berkonsentrasi tinggi. Oleh karena itu, penentuan konsentrasi agarosa dalam membuat gel harus memperhatikan ukuran molekul DNA yang akan dianalisis.

- 3) Konformasi DNA

Bentuk rangkaian molekul atau konformasi DNA berukuran sama akan bermigrasi dengan kecepatan berbeda.

- 4) Voltase yang digunakan

Pada voltase, tingginya voltase sebanding dengan kecepatan migrasi DNA yang digunakan. Tetapi sebaliknya, mobilitas molekul DNA akan meningkat dengan cepat apabila penggunaan voltase ditingkatkan. Dengan meningkatnya voltase yang digunakan akan mengakibatkan pemisahan molekul DNA di dalam gel menurun. Penggunaan voltase yang ideal untuk mendapatkan separasi molekul DNA berukuran lebih besar 2 kb adalah tidak lebih dari 5 volt per cm.

5) Keberadaan etidium bromida di dalam gel

Berkurangnya tingkat kecepatan migrasi molekul DNA linear sebesar 15% disebabkan oleh keberadaan etidium bromide di dalam gel.

6) Komposisi larutan *buffer*

Tidak adanya kekuatan ion dalam larutan, akan mengakibatkan migrasi DNA sangat lambat dan aliran listrik akan sangat minimal. Tetapi apabila larutan *buffer* berkekuatan ion tinggi, maka akan meningkatkan panas, sehingga aliran listrik akan maksimal. Sementara larutan *buffer* berkekuatan ion tinggi akan meningkatkan panas, sehingga aliran listrik menjadi sangat maksimal. Oleh karena itu, kemungkinan DNA dapat mengalami denaturasi dan gel akan meleleh.

C. Tinjauan Umum Bakteri

Pengetahuan mengenai morfologi dan struktur halus bakteri diperoleh dalam dua kurun waktu yang berbeda. Pengamatan-pengamatan yang dibuat oleh

Leeuwenhoek dengan mikroskopnya yang sederhana menampakan penampakan kasar mikroorganisme, termasuk bakteri. Gambar-gambarnya yang telah dibuat dengan hati-hati mengenai apa yang kini kita kenal sebagai bakteri menampakan bentuk-bentuk sel yang bundar, seperti batang, atau spiral. Perbaikan-perbaikan selanjutnya dalam mikroskop cahaya, termasuk teknik-teknik pewarnaan, telah memungkinkan untuk mengamati dengan lebih tepat bentuk khas sel-sel ini, ukurannya. Sebagian dari struktur luarnya, serta pola penataannya. Ukuran, bentuk, serta penataan merupakan ciri morfologi kasar sel suatu spesies bakteri (Michael, 2013).

Ada berbagai macam panjang sel bakteri, sel beberapa spesies dapat berukuran 100 kali lebih panjang daripada sel spesies yang lain. Satuan ukuran bakteri adalah mikrometer (μm), yang setara dengan $1/1000$ mm atau 10^{-3} mm. Bakteri yang paling umum dipelajari di dalam praktikum mikrobiologi dasar berukuran kira-kira $0.5\text{-}1.0 \times 2.0\text{-}5.0 \mu\text{m}$. Sebagai contoh bakteri *Staphylococcus* dan *Streptococcus* yang berbentuk bola mempunyai diameter yang berkisar dari 0.75 sampai $1.25 \mu\text{m}$. Bentuk batang yang berukuran rata-rata seperti bakteri tiroid dan disentri mempunyai lebar 0.5 sampai $1 \mu\text{m}$ dan panjang 2 sampai $3 \mu\text{m}$. Sel beberapa spesies bakteri amat panjang, panjangnya dapat melebihi $100 \mu\text{m}$ dan diameternya berkisar dari 0.1 sampai $0.2 \mu\text{m}$. Sekelompok bakteri yang dikenal sebagai *mikroplasma*, ukurannya khas amat kecil, demikian kecilnya sehingga hampir tak tampak di bawah mikroskop cahaya. Mereka juga *pleomorfik* yaitu

morfologinya amat beragam. Ukurannya berkisar dari 0.1 sampai 0.3 μm (Michael, 2013).

Sel-sel individu bakteri dapat berbentuk seperti elips, bola, batang (silindris), atau spiral (heliks). Masing-masing ciri ini penting dalam mencirikan morfologi suatu spesies. Kapsul beberapa sel bakteri, seperti misalnya *Pneumococcus* yang menyebabkan pneumonia, dikelilingi oleh suatu lapisan bahan kental yang disebut kapsul atau lapisan lendir. Medium tempat tumbuhnya bakteri sangat mempengaruhi ukuran kapsul bakteri. Di beberapa peristiwa, tebalnya kapsul hanya satu persekian diameter selnya, dalam kasus-kasus lain ukuran kapsul jauh lebih besar daripada selnya.

Kapsul pada bakteri berperan penting terutama untuk bakterinya sendiri maupun bagi organisme lain. Pada bakteri, kapsul merupakan bagian yang berfungsi untuk gudang makanan cadangan serta sebagai penutup yang melindungi bakteri. Kapsul pada bakteri penyebab penyakit tertentu menambah kemampuan bakteri tersebut untuk menginfeksi. Bila bakteri itu kehilangan kapsulnya sama sekali, maka ia dapat kehilangan virulensinya dan dengan demikian kehilangan kemampuannya menyebabkan infeksi. Bakteri-bakteri berkapsul juga menyebabkan adanya gangguan seperti lendir dalam beberapa proses industri (Michael, 2013).

Bakteri adalah bentuk kehidupan tertua dan sampai sekarang masih ada di dunia. Beberapa sampel fosil menunjukkan bahwa bakteri telah ada sejak lebih dari $2-3 \times 10^9$ tahun lalu, dan tersebar sangat luas di seluruh lingkungan dunia. Lamanya

bakteri untuk bisa bertahan hidup karena ukurannya yang kecil, yaitu panjang 1-3 μm dan diameter 0.5-1 μm (Handayanto, 2009).

Kelompok bakteri terdiri atas semua organisme prokariotik patogen dan nonpatogen yang terdapat di daratan dan perairan, serta organisme prokariotik yang bersifat fotoautotrof. Spesies bakteri dapat dibedakan berdasarkan morfologi nutrisi, aktivitas biokimia, dan sumber energi (sinar matahari atau bahkan kimia). (bentuk). Komposisi kimia (umumnya dideteksi dengan reaksi biokimia), kebutuhan Ada beberapa bentuk dasar bakteri, yaitu bulat (tunggal: *coccus*, jamak *cocci*), batang atau silinder (tunggal: *bacillus*, jamak: *bacilli*), dan spiral yaitu berbentuk batang melengkung atau melingkar-lingkar (Pratiwi, 2008).

Sebagian besar bakteri memiliki diameter dengan ukuran 0.2-2.0 μm dan panjang berkisar 2-8 μm . biasanya sel-sel bakteri yang muda berukuran jauh lebih besar daripada sel-sel yang tua. Bentuk dan ukuran suatu bakteri dapat dipengaruhi oleh faktor lingkungan seperti temperature inkubasi, umur kultur, dan komposisi media pertumbuhan (Pratiwi, 2008).

Sel bakteri terdiri atas sitoplasma, membrane sitoplasma, kapsul, dinding sel, ribosom, pil, flagella dan nukleoid. Reproduksi bakteri umumnya melalui pembelahan, yaitu bentuk pembiakan asexual dimana pembelahan suatu sel tunggal atau kromosom diikuti dengan pembelahan sitoplasma untuk membentuk dua sel kembar (Handayanto, 2009).

D. Tinjauan Umum Anjing

Menurut Kamus Besar Bahasa Indonesia (KBBI), anjing adalah binatang menyusui yang biasa dipelihara untuk menjaga rumah, berburu, dan lain sebagainya. Budiana (2006) pada bukunya yang berjudul *Anjing* menyatakan bahwa saat ini terdapat 46 jenis anjing populer di Indonesia.

Anjing merupakan mamalia karnivora yang telah mengalami domestikasi dari segala sejak 15.000 tahun yang lalu atau mungkin sejak 100.000 tahun yang lalu. Hal ini sesuai dengan bukti genetik berupa penemuan fosil dan tes DNA. Penelitian lain mengungkap sejarah dokumentasi anjing yang belum begitu lama. Anjing telah berkembang menjadi ratusan ras dengan berbagai macam variasi, mulai anjing yang tinggi badannya hanya beberapa puluh sentimeter seperti *Chihuahua* hingga *Irish Wolfhound* yang tingginya lebih dari satu meter. Ada berbagai macam warna bulu anjing, mulai dari putih sampai hitam, abu-abu, juga merah dan coklat. Selain itu, anjing memiliki berbagai jenis bulu, mulai dari yang sangat pendek hingga yang panjangnya bisa mencapai beberapa sentimeter. Ada berbagai macam bulu anjing ada yang keriting, lurus, serta teksturnya juga beragam mulai ada yang lembut seperti benang wol dan juga berstruktur kasar (American Kannel Club, 1992).

Klasifikasi ilmiah anjing, adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Animalia
Filum	: Chordata
Kelas	: Mammalia
Ordo	: Canidae

Genus : *Canis*

Spesies : *Canis lupus familiaris* (Bayu Rosadi, 2014).

Anjing pertama kali didomestikasi di Asia Timur, kemungkinan mengidentifikasi di Tiongkok. Manusia pertama yang menginjakkan kaki di Amerika Utara membawa serta anjing dari Asia. Penelitian genetika telah berhasil 14 ras anjing kuno. Diantaranya, Chow Chow, Shar Pei, Akita, Shiba dan Basenji merupakan ras anjing yang tertua. Teori yang mengatakan anjing berasal dari Asia mungkin bisa dipercaya karena sebagian besar dari 14 ras anjing kuno berasal dari China dan Jepang (Fiennes dan Fiennes 1968).

E. Tinjauan Umum Golden retriever

Golden retriever merupakan anjing multifungsi. Bulu tebal dan panjang membuat penampilannya anggun dan pantas bila dijadikan anjing kesayangan. Temperamennya bersahabat sehingga menjadi pilihan tepat sebagai anjing keluarga. Kesitimewaan lain anjing ini adalah mudah akrab dengan anak-anak. Daya penciumannya pun tajam. Oleh karena itu golden retriever dimanfaatkan sebagai anjing pelacak bom dan narkoba SAR. Pantas bila golden retriever disukai penggemar anjing di berbagai negara. Di Amerika, golden retriever termasuk anjing terpopuler. Penggemar anjing ini di Indonesia pun mulai banyak dan pamornya makin menanjak sejak tahun 2000 (Natasaputra, 2004).

Keistimewaan lain terlihat dari bulu sekujur tubuhnya yang berwarna kuning keemasan, lebat, dan ikal. Terutama di bagian dada sehingga penampilannya semakin *glamour*. Warna bulu inilah yang menyebabkan anjing ini disebut golden. Nama retriever diberikan pada anjing ini karena kebiasaannya mengembalikan benda atau sesuatu yang dilemparkan. Retriever diambil dari kata bahasa Inggris (*retrieve*; mengembalikan) (Natasaputra, 2004).

Kennel pertama kali yang mengembangkan golden retriever di Amerika Utara adalah Gilnockie, milik Bert Armsrton yang memulai pembiakan pada tahun 1918. Kemudian, diikuti Kolonel S. S. Magoffin yang mendirikan Rockhaven Kennel pada tahun 1928. Di tangan kedua pembiak tersebut, golden retriever menjadi populer. Di Indonesia, golden retriever sudah diperkenalkan sejak tahun 1980-an. Namun, saat itu hobi belum banyak dan kurang tertarik pada anjing jenis ini. Banyaknya penggemar memunculkan pembiak-pembiak baru yang tertarik untuk mengembangkan golden retriever. Oleh karena itu, dibentuklah Golden Retriever Club of Indonesia (GRCI) pada tahun 2000 (Natasaputra, 2004).

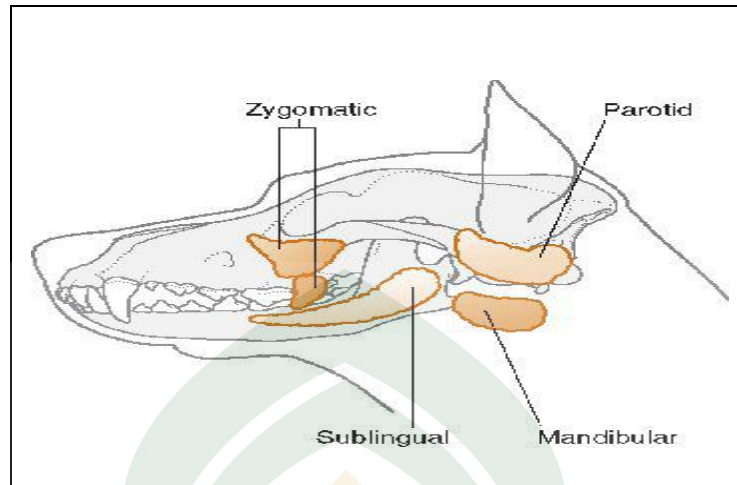
Tinggi golden retriever jantan 23-24 inci (58.5-61 cm) dihitung dari punggung atas (*withers*) sampai lantai, sedangkan betina 21.5-22.5 inci (55-57.5 cm). Perbandingan panjang dari tulang dada (*prostenum*) sampai pinggul (*pelvis bone*) dengan tinggi badannya adalah 11:12. Berat anjing jantan adalah 66-75 pounds (30-34 kg), sedangkan betina 55-65 pounds (25-30 kg) (Natasaputra, 2004).

F. Tinjauan Umum Air Liur atau Saliva Anjing

Air liur anjing dihasilkan oleh kelenjar saliva yang termasuk didalam aksesoris sistem *digestivus* (*apparatus digestorius*). *Apparatus digestivus* terdiri darirongga mulut, *pharynx*, *alimentary canal* dan kelenjar aksesorius. Kelenjar aksesorius terdiri dari gigi, lidah, kelenjar ludah, hati, *gallbladder*, pankreas dan kantung anal (Evans 1993).

Kelenjar saliva terbagi menjadi 2 bagian yaitu kelenjar saliva mayor yang terdiri dari kelenjar *parotid*, *mandibular*, *sublingual* dan kelenjar *zygomaticus*, sedangkan kelenjar saliva minor terdapat pada daerah ventral buccalis. Kelenjar saliva mayor berfungsi mengeluarkan saliva pada saat anjing sedang mengunyah sehingga makanan yang dikunyah akan terbentuk menjadi bolus dan kemudian dilubrikasi dengan air liur tersebut sehingga memudahkan proses penelanan makanan. Sedangkan fungsi dari kelenjar saliva minor adalah sebagai penunjang kelenjar saliva mayor (Peter C 1997).

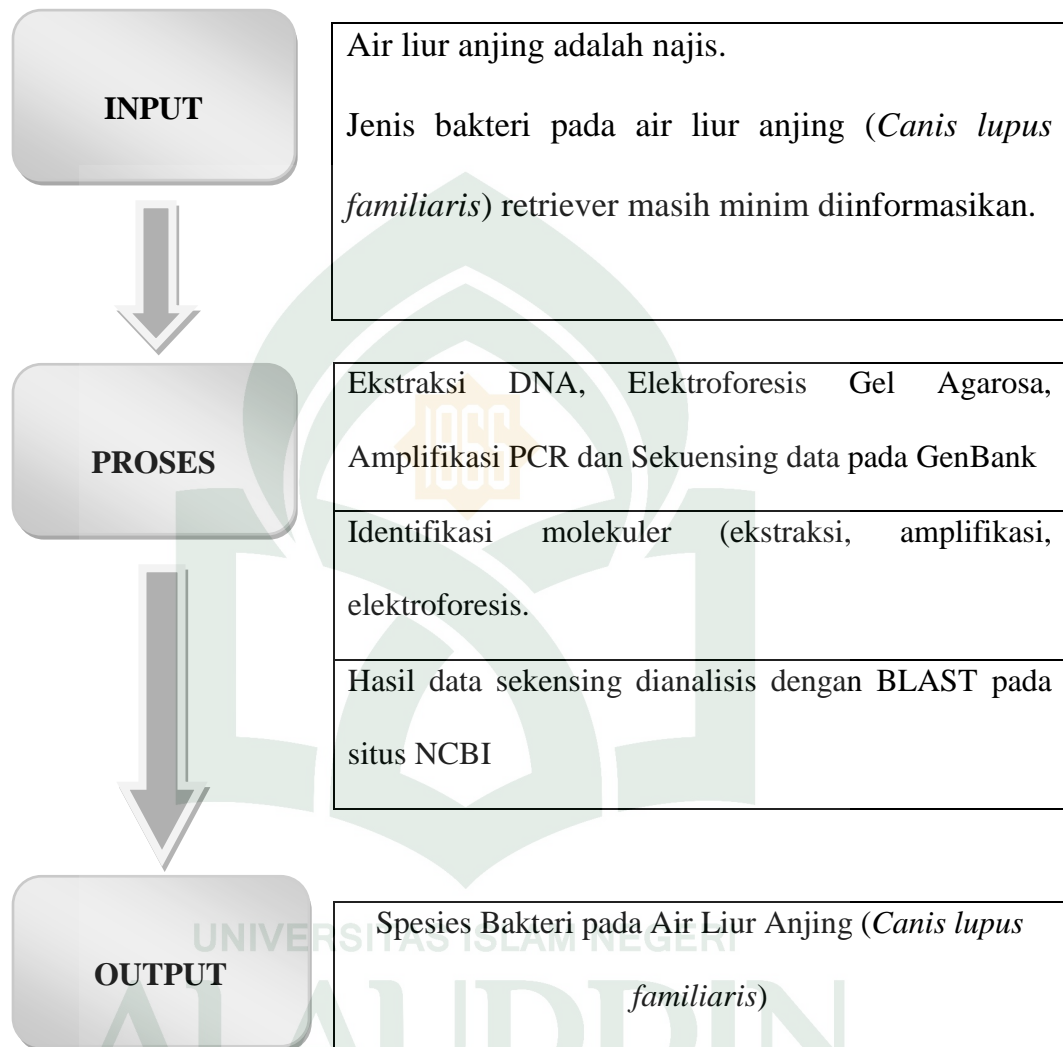
Sekresi saliva distimulasi oleh *N. Facialis* (superior) dan *N. Glossopharyngeus* (inferior), keduanya dipengaruhi oleh sistem saraf simpatis (komposisi air liur) dan parasimpatis (volume air liur). Sedangkan rangsangan terhadap sekresi saliva dipengaruhi oleh berbagai faktor, antara lain: panca indera (perasa, penciuman dan penglihatan), mekanik (*mastikasi*), iritasi atau infeksi, hormonal (*bradikinin*), dan obat (*atropin*) (Sjuhada 2007).



Gambar 2.1 Kelenjar saliva pada anjing (Debra 2005).

Dalam air liur terdapat kandungan protein enzimatik dan non-enzimatik, kalsium, fosfor, natrium, nitrogen, oksigen, karbondioksida dan sel epitel ronggamulut. Pada anjing air liur ini juga berfungsi sebagai media pembawa dari penyakit zoonosis yaitu rabies atau biasa disebut penyakit anjing gila yang disebabkan oleh virus Rabies yang berasal dari Genus *Lyssavirus* Family *Rhabdovirus*, bersifat akut dan menyerang susunan saraf pusat (Badan Karantina Pertanian 2007).

G. Kerangka Pikir



BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

A. Jenis dan Pendekatan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian kualitatif dengan pendekatan eksploratif untuk mengetahui jenis bakteri pada saliva anjing (*Canis lupus familiaris*) ras Golden retriever.

B. Waktu dan Lokasi Penelitian

Adapun waktu pelaksanaan penelitian Identifikasi Molekuler Bakteri pada saliva anjing (*Canis lupus familiaris*) ras Golden retriever dilakukan pada tanggal 22-23 Februari 2018. Adapun lokasi penelitian bertempat di Laboratorium Mikrobiologi RSP (Rumah Sakit Pendidikan) Universitas Hasanuddin Makassar.

C. Variabel Penelitian

Penelitian ini memiliki variabel tunggal yaitu jenis bakteri yang terdapat pada air liur anjing (*Canis lupus familiaris*) Ras Golden retriever.

D. Definisi Operasional Variabel

Bakteri adalah organisme hidup yang tidak memiliki membran inti sel. Organisme ini termasuk ke dalam domain prokariota dan berukuran sangat kecil

(mikroskopik), hidup di dalam saliva anjing (*Canis lupus familiaris*) ras Golden retriever yang diidentifikasi dengan metode PCR.

E. Instrumen Penelitian

1. Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain mikropipet, freezer - 72°C, gunting, Laminar air Flow, vortex, centrifuge, water bath, bucket, pinset, waterbath, Hot plate and stirrer, satu set alat elektroforesis, ball point, UV Transulaminator, computer, Rak, Labu Erlenmeyer, gelas ukur, tip, neraca analitik, spatula, stopwatch, freeze -20°C, gelas kimia, satu set alat elektroforesis, PCR Workstation/cabinet (Sci-Plus)/Biosafety cabinet, Gene Amp PCR System 9700 (Applied Biosystem), Sub Gel GT Electroforesis system, Profuge GK-Centrifuge, Ice Maker (Mommert), Gel DocXR Model 785.

2. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain saliva anjing, H₂O₂, tube, etanol 96%, gen 16S-rRNA, Presto™ Buccal Swab DNA Extraction Kit (100 Preps), gSYNC™ DNA Extaction Kit (100 Preps), Handscoon, masker, 200 µl PBS (Phosphat buffer Seline), Carrier RNA, S1 Buffer GSB (Gel solubilitation buffer), S2 Buffer GSB (Gel solubilitation buffer), Nucleid Acid, alkohol 5%, GD collumn 2 ml Collection tube, Proteinase K, Buffer W1, Wash buffer (Geneaid), elution buffer, buffer AL-mix, Enzym KAPA Ready Mix, MgCl₂, DNA Template, Nuclease Free Water, kertas label, tissu, medic cool, primer forward, primer reverse,

tabung PCR (Sorensen, Cat. No 3922), Parafilm (Sigma, Cat. No. 7543), *Filter tips* 0.5-10 μ l (MBP, Cat. No 3922), *Filter tips* 10-Disposable gloves, VipPlus PCR Chiller, Tabung Eppendorf, *Loading dye*, agarose, Marker 100bp, TBE Buffer 10x.

F. Prosedur Kerja

1. Preparasi Sampel

Sampel yang digunakan adalah saliva anjing yang diambil dari mulut anjing rumah Ras Golden Retriever dengan metode Swab dan langsung.

2. Identifikasi Isolat Bakteri pada Saliva Anjing

Identifikasi bakteri pada saliva anjing (*Canis lupus familiaris*) Ras Golden retriever dideterminasi dengan menggunakan sekuen 16S-rRNA. Analisis Cluster pada sekuens tersebut dilakukan dengan program *BLAST* (*Basic Local Alignment Tool*) dari *NCBI* (*National Center for Biotechnology Information*). Gen 16S-rRNA dianalisis secara lengkap di 1st Base Malaysia. Adapun langkah-langkah analisis gen 16S-rRNA dilakukan sebagai berikut:

a. Ekstraksi DNA

Ekstraksi DNA pada dasarnya merupakan serangkaian proses pemisahan DNA dari komponen-komponen sel lainnya. Pada ekstraksi DNA ini metode yang digunakan adalah metode ekstraksi DNA Kit (Geneaid DNA Purification Kit) . Langkah-langkah ekstraksi DNA adalah sebagai berikut:

1. Metode air liur murni atau langsung (NoA)

a. Preparasi Sampel (*sample preparation*)

Sampel saliva anjing dimasukkan ke dalam tabung mikrocentrifuge (semua) kemudian tambahkan 200 μ l (*Phospat Buffer Saline*), centrifuge sampel mengambil pelet.

b. *Cell lysis* (Melisiskan sel)

Masukkan Carrier RNA ke tabung mikrocentrifuge sebanyak 0.6 μ l. Tambahkan 200 μ l Buffer S₂ ke dalam tabung mikrocentrifuge sebanyak 500 μ l, lalu vortex. Tambahkan proteinase K sebanyak 200 μ l lalu vortex. Inkubasi selama 10 menit. Tambahkan 200 μ l GSB buffer lalu vortex, inkubasi selama 10 menit.

c. *DNA Binding*

Tambahkan ethanol 200 μ l lalu vortex selama 10 detik. Memindahkan semua campuran tersebut ke dalam GD Column (Spin column), sentrifugasi pada 13.000 Rpm selama 1 menit. Buang collection tube yang berada di bawah spin column dan mengganti dengan collection tube yang baru.

d. *Wash* (Pencucian)

Tambahkan 400 μ l buffer W1 lalu sentrifuge selama 1 menit dengan kecepatan yang sama kemudian buang cairan yang ada pada collection tube. Tambahkan 600 μ l wash buffer (Geneaid) sentrifuge selama 1 menit, lalu buang cairan pada collection tube dan sentrifuge kembali selama 3 menit. Buang

collection tube dan letakkan mikrocentrifuge steril pada bagian bawah spin column.

e. *Elution*

Selanjutnya tambahkan 100 µl Elution buffer kemudian sentrifuge dengan kecepatan yang sama selama 1 menit. Cairan yang mengandung DNA yang tertampung pada tabung mikrocentrifuge disimpan pada -4°C untuk digunakan sebagai template PCR.

2. Metode Swab (NoB)

a. *Preparasi Sampel (sample preparation)*

Swab dimasukkan ke dalam tabung mikrocentrifuge kemudian tambahkan 500 µl S1 Buffer, proteinase K 20 µl lalu vortex, inkubasi selama 10 menit.

b. *Cell lysis* (Melisiskan sel)

Memasukkan swab ke dalam collection tube dan sisa cairan sampel (volume tidak ditentukan). Centrifuge pada 13.000 Rpm selama 2 menit. Mengambil hasil saringan dan memindahkan ke collection tube baru dan buang swab. Tambahkan 500 µl S2 Buffer ke dalam tabung mikrocentrifuge sebanyak lalu vortex. Inkubasi selama 10 menit.

c. *DNA Binding*

Tambahkan ethanol 500 µl lalu vortex selama 10 detik. Memindahkan semua campuran tersebut ke dalam GD Column (Spin column) sebanyak 750 µl,

sentrifugasi pada 13.000 Rpm selama 1 menit. Buang collection tube yang berada di bawah spin column dan mengganti dengan collection tube yang baru.

d. *Wash* (Pencucian)

Tambahkan 600 µl wash buffer lalu sentrifuge selama 1 menit dengan kecepatan yang sama kemudian buang cairan yang ada pada collection tube, pindahkan ke collection tube baru.

e. *Elution*

Selanjutnya tambahkan 100 µl Elution buffer kemudian sentrifuge dengan kecepatan yang sama selama 1 menit. Cairan yang mengandung DNA yang tertampung pada tabung mikrosentrifuge disimpan pada -4°C untuk digunakan sebagai template PCR.

b. Amplifikasi PCR (*Polimerase Chain Reaction*).

PCR merupakan suatu proses sintesis enzimatik untuk melipatgandakan suatu sekuens nukleotida tertentu secara in vitro (di dalam tabung). Prosesnya meliputi 3 tahap, yaitu denaturasi dengan suhu 95 °C selama 30 detik, annealing dengan suhu 55 °C selama 30 detik dan ekstention dengan suhu 72 °C selama 1 menit. 46 Prosedur ini dikerjakan pada sampel DNA yang telah diisolasi, ekstrak DNA dari sampel dan aquadest sebagai kontrol negatif. "PCR mix" dimasukkan ke dalam tabung PCR (Hiroaki, 2009).

Tabel 3.1. Komposisi Primer Mix

Reaksi	(μ l)
Enzym KAPA Ready Mix	25
MgCl	2
Forward primer	1
Reverse primer	1
DNA Template	5
Nuclease Free Water	16
Total premix	50

(Protokol pabrik (Qiagen))

Amplifikasi dilakukan dengan menggunakan mesin PCR (DNA thermal Cycler). Untuk amplifikasi PCR, tahap awal denaturasi pada suhu 95°C selama 15 menit, selanjutnya 94°C selama 1 menit, *annealing* pada suhu 55°C selama 30 detik, ekstensi 72°C selama 1 menit sebanyak 40 siklus dilanjutkan dengan ekstensi akhir suhu 72°C selama 1 menit sebanyak 40 siklus dilanjutkan dengan ekstensi akhir suhu 72°C selama 5 menit dan 12°C \pm 30 menit untuk penyimpanan.

c. Pembuatan Gel Agarose 2%

Agarosa dibuat dengan melarutkan 2 gr agarose (BioRad) dalam 100 mL 10 Tris borate EDTA (*Ethylene Diamine TetraAcid*) (100 g Tris base, 27.5 g asam borat, 20 ml 0.5 M EDTA pH 8.0 dalam 1 liter air). Kemudian dipanaskan sampai mendidih dan larut (bening). Selanjutnya ditambahkan 2 μ l ethidium bromida dan dimasukkan dalam pencetak gel yang telah dipasang sisir. Tunggu gel agarosa sampai memadat (sekitar 30 menit).

d. Elektroforesis

Gel agarose dimasukkan ke dalam tank elektroforesis yang berisi larutan TBE 0.5x. masukkan DNA sampel yang telah dicampur dengan cairan “loading dye” ke

dalam sumur dengan perbandingan 2 : 1, kemudian masukkan Marker 100bp setelah keseluruhan sampel telah dimasukkan. Elektroda dihubungkan dengan power supply, kemudian dinyalakan selama 1 jam (60 menit). Setelah itu,, alat elektroforesis dimatikan kemudian gel dari alat tersebut diambil. Gel dipindahkan ke dalam UV transilaminator kemudian diamati hasilnya pada komputer.

e. Analisis Data Sekuensing

Analisis data sekuensing dilakukan dengan menggunakan program software DNA star. Untuk analisa *sequence alignment*, dilakukan dengan membandingkan sekuens yang diperoleh (*query*) dengan yang telah ada pada *Gene Bank* dengan *database searches* NCBI internet site (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) menggunakan BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*). Ukuran fragmen hasil amplifikasi PCR ditentukan dengan cara dibandingkan antara posisi ukuran penanda DNA (Marker) dengan ukuran fragmen sampel. Hasil positif ditunjukkan dengan adanya band pada ukuran 996 bps.

BAB IV

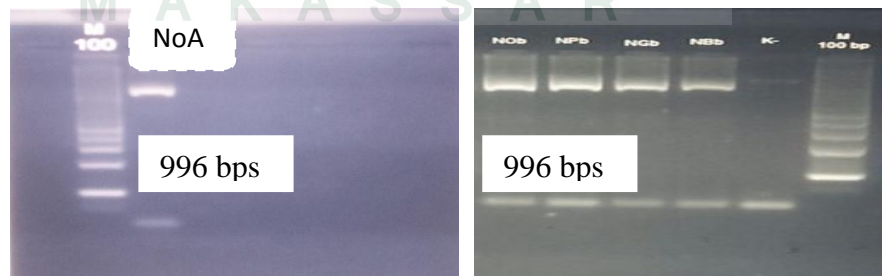
HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Pengamatan

Adapun sampel yang diidentifikasi secara molekuler yaitu pot sampel atau air liur murni diberi kode sampel (NoA) dan swab diberi kode sampel sampel (NoB). Kedua sampel ini dideterminasi dengan menggunakan primer universal yaitu forward primer 63F dan reverse primer 1387R untuk sekuen 16S-rRNA. Sekuens menggunakan primer U1 adalah 5'-CCAGCAGCCGCGGTAATACG-3' dengan U2 adalah 5'-ATCGG(C/T)TACCTTGTTACGACTTC-3' (Lu Jang Jih dkk, 2000).

Gen 16S-rRNA dianalisis secara lengkap di 1st BASE sequencing INT Malaysia. Analisis cluster pada sekuens tersebut dilakukan dengan program BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*) dari NCBI (*National Center for Biotechnology Information*) secara online pada website (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>).

Adapun hasil elektroforesis dari produk amplifikasi gen 16S-RNA yang dilakukan dengan menggunakan mesin PCR (*DNA Thermal Cycler*) seperti pada gambar berikut:



Gambar 4.1 Hasil Elektroforesis dari Produk Amplifikasi gen 16S-rRNA NoA dan NoB 996 bp.

a. Hasil sequencing urutan basa nitrogen sampel (Air liur murni (NoA))

```
CGCAGGCGGTTGTTGTAAGTCAGATGTGAAATCCCCGGGCTCAACCT
GGGAATTGCGTTTGAAACTGGACGGCTGGAGTGCCTGAGAGGGGGG
TGGAATTCCGGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATGTGGAGGAACA
CCGATGGCGAAGGCAGTCCCCTGGGACTGCACTGACGCTCATGCACG
AAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATAACCCTGGTAGTCCACGCC
CTAAACGATGTCTGATTGGTTGTTGGGGCTTAAGTTACTCTGTTACCAA
ACTTAAGCGTGAAGTCTACCCCCTGGGGAGTACGGCCCCAAGGATGA
AACTCAAAGGAATTGACGGGGACCCCCACAAGCGGGGGATGATGTG
GTATTATTCGATGCCACCCGAAAAACCTTACCTAGCCTTGACATGGT
AGGAAATCTGCAAAAATGTGGTGTGCTCTTCAGAAAGCGTGACCAG
AGGTGCTGCTTGGTTGTCCTCACCTCGTGTCTGAGATGTTGG
```

Gambar 4.2 Hasil sequencing urutan basa sampelNoA.

Dari hasil identifikasi molekuler urutan basa nitrogen dari sampelNoA (4.2) memiliki kesamaan persentase tertinggi dengan bakteri *Tepidimonas thermarum*, *Caldimonas manganoxidans*, *Tepidimonas taiwanensis*, *Caldimonas taiwanensis*, *Caldimonas sp*, *Tepidimonas sp*, *Tepidimonas fonticaldi* dan *Tepidimonas aquatica*.

b. Hasil sequencing urutan basa nitrogensampel (swab (NoB))

```
TGACTGGGCGTAAGGGCGCGCAGGCGGATTGTAAAGTCAGATGTGAA
AGCCCCGGGCTCAACCTGGGAATTGCATTTCAAACCTGGGAATCTAGA
GTATTTTAGGGGGGGGTAGAATTCCACGTGTAGCGGTGAAATGCGTA
GAGATGTGGAGGAATACCGATGGCGAAGGCAGCCCCCTGGGAATAT
ACTGACGCTCATGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATA
CCCTGGTAGTCCACGCTGTAAACGATGTCAATTTGGGGATTGGGCTTT
AAGTTTGGTGCCCGAAGCTAACGTGATAAATCGACCGCCTGGGGAGT
ACGGCCGCAAGGTAAACTCAAATGAATTGACGGGGGGCCCGCACA
AGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCTATGCACCGCGAAGAACCTTAC
CTACTCTTGACATCCATGGAAGCTCGTAGAGATATGAGTGTGCCTTC
GGGAACCATGAGACAGGTGCTGC
```

(Gambar 4.3) Hasil sequencing urutan basa sampelNoB

Dari hasil identifikasi molekuler urutan basa nitrogen dari sampelNoB (4.3) memiliki kesamaan persentase tertinggi dengan bakteri *Pasteurellaceae bacterium*,

Bibersteinia trehalosi, *Bibersteinia* sp, *Pasteurella trehalosi*, *Unrsidibacter maritimus*.

Adapun hasil analisis BLAST sampel air liur murni (NoA) di NCBI, ada beberapa jenis bakteri yaitu:

No	Kode Sampel	Jenis Spesies	Strain	Kemiripan	Query Coverage
1.	NoA	<i>Tepidimonas</i> sp	Strain AA2	89%	100%
			Strain 72277	88%	100%
			Strain 72278	88%	100%
			Strain 72256	88%	100%
			Strain 72238	88%	100%
			Strain PL12	88%	100%
			Strain LS9	88%	100%
			Strain BR5	88%	100%
			Strain BR3	88%	100%
			Strain 72259	88%	100%
		<i>Tepidimonas thermarum</i>	Strain AA-1	89%	100%
		<i>Caldimonas manganoxidans</i>	Strain A01	88%	100%
			Strain S03	88%	100%
			Strain 16448	88%	100%
			Strain 10698	88%	100%

			Strain R63	88%	100%
		<i>Tepidimonas taiwanensis</i>	Strain MK5	88%	100%
			Strain 104868	88%	100%
			Strain 11-1	88%	100%
			Strain A01	88%	100%
			Strain 1B_0605	88%	100%
		<i>Caldimonas taiwanensis</i>	Strain MK11	88%	100%
			Strain On1	88%	100%
		<i>Caldimonas</i> sp	Strain B15	88%	100%
		<i>Tepidimonas fonticaldi</i>	Strain PL17	88%	100%
		<i>Tepidimonas aquatic</i>	Strain CLN-1	88%	100%
2.	NoB	<i>Pasteurellaceae</i>	Strain b1	96%	100%
		<i>bacterium</i>	Strain 7161	96%	100%
			Strain 201898	96%	100%
			Strain17204	96%	100%
			Strain Z0o44	96%	100%
			Strain 22043	96%	100%
			Strain 55508	96%	100%
			Strain M2500	96%	100%
			Strain D597299	95%	100%
			Strain D452399	95%	100%

			Strain D294198	95%	100%
			Strain F12	96%	100%
			Strain 126604	96%	100%
			Strain 17205	96%	100%
			Strain 154904	96%	100%
			Strain d22799	95%	100%
		<i>Bibersteinia trehalosi</i>	Strain 189	95%	100%
			Strain 188	95%	100%
			Strain 192	96%	100%
			Strain 16	96%	100%
		<i>Pasteurellaceae trehalosi</i>	StrainC1008	96%	99%
			Strain 106810	96%	99%
		<i>Biberstenia</i> sp	Strain Aks 10	96%	100%
		<i>Ursidibacter maritimus</i>	Strain Pb43106	95%	100%
			Strain Pb43101	95%	100%
			Strain Malikx	95%	100%
			Strain Nuuknx	95%	100%
			Strain Pb43104	95%	100%
			Strain Pb 43102	95%	100%

Tabel 4.1. Hasil Analisis Blast di NCBI sampel NoA dan NoB

Adapun hasil analisis BLAST sampel air liur murni (NoA) di NCBI dengan jumlah bakteri ada 8 spesies dan dari satu spesies bakteri memiliki beberapa strain yang berbeda jadi total semua bakteri yaitu 26. Adapun nilai *Query cover* dari setiap bakteri yang teridentifikasi yaitu 100%. Adapun nilai kemiripannya yaitu 88% dan 89%.

Adapun hasil analisis BLAST sampel swab (NoB) di NCBI dengan jumlah bakteri 5 spesies dan dari satu spesies bakteri memiliki beberapa strain yang berbeda jadi total semua bakteri yaitu 30. Adapun nilai *Query cover* dari setiap bakteri yang teridentifikasi yaitu 100% dan 99%. Adapun nilai kemiripannya yaitu 96% dan 95%.

B. Pembahasan

Sampel yang digunakan adalah air liur anjing (*Canis lupus familiaris*) ras Golden retriever yang diambil dari jenis anjing rumahan yang dilakukan dengan cara steril.

1. Identifikasi Molekuler

Dalam proses identifikasi molekuler mikroorganisme, ada 3 proses utama yang paling dasar yaitu ekstraksi, amplifikasi dan elektroforesis. Pada tahap ekstraksi terjadi pemisahan benang-benang DNA dengan komponen sel yang lain.

a. Ekstraksi DNA

Pada proses ekstraksi DNA ini digunakan Kit Gysnc Genomic DNA Purifucation kit (Geneid). Tahap pertama dalam isolasi DNA adalah proses perusakan atau penghancuran membran dan dinding sel. Pemecahan sel (lisis) merupakan

tahapan dari awal isolasi DNA yang bertujuan untuk mengeluarkan isi sel. Pada proses lisis dengan menggunakan buffer GSB Geneid. Buffer tersebut selain berperan dalam melisiskan membran sel juga dapat berperan dalam mengurangi aktivitas enzim nuklease yang merupakan enzim pendegradasi.

Pada proses pemanasan tinggi atau metode boiling selama beberapa 5 menit akan menyebabkan peningkatan permeabilitas dinding sel yang berakibat pada masuknya cairan dan materi lain di sekitar sel dan keluarnya materi-materi dari dalam sel. Suhu tinggi juga bermanfaat untuk inaktifasi enzim terutama DN-ase yang dapat merusak DNA. Suhu pemanasan yang dilakukan pada penelitian ini suhu 60°C selama 5 menit seperti yang tertera pada manual prosedur geneaid.

Suhu yang terlalu tinggi atau waktu terlalu lama pada saat pemasan dikhawatirkan akan merusak DNA target dan akan memperpanjang proses ekstraksi, mengakibatkan proses pengeluaran DNA tidak sempurna sehingga kemungkinan adanya DNA yang terperangkap dalam sel. Eliminasi partikel lain juga tidak sempurna sehingga dapat menjadi inhibitor pada proses amplifikasi.

Ekstraksi DNA dengan mini column merupakan metode ekstraksi yang paling umum dilakukan karena hasil yang didapatkan sangat baik dalam waktu yang singkat (dibandingkan metode *phenol-chlorophorm*) dan biaya yang lebih murah dibandingkan dengan *magnetic bead*. Metode ini hanya memerlukan waktu sekitar 1 jam (cukup lama dibandingkan metode sederhana).

Proses ekstraksi yang dilakukan sesuai dengan petunjuk pedoman manual oleh geneaid dengan menggunakan gSYNC DNA Ekstraction Kit. Didalam prosedur

manual ini ada beberapa proses penting dalam ekstraksi yaitu preparasi sampel, lisis sel, pengikatan DNA, pencucian dan elusi. Pertama sel dilisis menggunakan lysis buffer (*buffer AL*). Komponen sel (terutama protein) dihancurkan dengan menggunakan enzim protease (*proteinase K*) dan DNA diendapkan dengan menggunakan ethanol absolut difilter dan dicuci dengan washing buffer (*buffer W1*). Terakhir, DNA dilarutkan dalam elution buffer (*buffer AE*).

b. Amplifikasi PCR

Hasil ekstraksi DNA kemudian diamplifikasi PCR. Dielektroforesis selama 60 menit dengan voltase 100 pada gel agarosa dengan konsentrasi 2%. PCR. Amplifikasi dilakukan dengan menggunakan mesin PCR (DNA thermal Cycler). Untuk amplifikasi PCR, tahap awal denaturasi pada suhu 95 °C selama 15 menit, selanjutnya 94 °C selama 1 menit, annealing pada suhu 55 °C selama 30 detik, ekstensi 72 °C selama 1 menit sebanyak 40 siklus dilanjutkan dengan ekstensi akhir suhu 72 °C selama 5 menit dan 12 °C \pm 30 menit untuk penyimpanan.

Polymerase Chain Reaction (PCR) merupakan suatu proses sintesis enzimatis untuk melipat gandakan suatu sekuens nukleotida tertentu secara in vitro. Prosesnya meliputi 3 tahap, yaitu denaturasi dengan suhu 95°C selama 30 detik, annealing dengan suhu 55°C selama 30 detik dan ekstention dengan suhu 72 °C selama 1 menit.

c. Elektroforesis

Dari hasil elektroforesis diketahui terdapat band yang terseparasi dan sejajar dengan marker 1000bp. Hal ini mengindikasikan bahwa fragmen gen yang

teramplifikasi memiliki ukuran $\pm 996\text{bp}$, sehingga dapat disimpulkan bahwa proses amplifikasi bakteri berhasil dilakukan.

Elektroforesis adalah teknik yang digunakan untuk memisahkan dan memurnikan suatu makromolekul khususnya protein dan asam nukleat berdasarkan perbedaan ukuran. Elektroforesis gel adalah teknik memisahkan suatu makromolekul dengan cara memberi gaya pada makromolekul tersebut untuk melewati medium berisi gel dibantu dengan tenaga listrik. Elektroforesis dengan Agarose merupakan metode standar untuk memisahkan, mengidentifikasi, mengkarakterisasi dan purifikasi dari molekul DNA/RNA, baik untuk pemisahan untai tunggal atau untai ganda molekul DNA. Molekul-molekul tersebut akan bermigrasi menuju kutub positif atau kutub negatif berdasarkan muatan yang terkandung di dalamnya. Molekul-molekul yang bermuatan negatif (anion) akan bergerak menuju kutub positif (anoda), sedangkan molekul-molekul yang bermuatan positif (kation) akan bergerak menuju kutub negatif (katoda). Elektroforesis digunakan untuk menyediakan informasi mengenai ukuran, konfirmasi dan muatan dari protein dan asam nukleat.

d. Analisis Data Sekuensing

Selanjutnya melakukan identifikasi spesies bakteri dari isolat sampel (NoA, dan NoB) dimana hasil dari PCR tersebut dikirim ke PT. Genetika Science Indonesia yang kemudian akan dikirim ke 1st BASE (*sequencing*) di Malaysia untuk pemetaan pasang basa yang berhasil di amplifikasi. Hasil yang diperoleh dari Malaysia selanjutnya dianalisis pada gen bank menggunakan analisis BLAST.

Identifikasi gen 16S- rRNA diawali dengan tahap sekuensing. Amplikon gen 16s rDNA disekuensing untuk memperlihatkan urutan basa nukleotidanya. Hasil analisis urutan basa adalah berupa elektroferogram yang berupa urutan basa A,T,G,C yang menyusun urutan basa gen sesuai dengan primer yang digunakan. Setelah urutan basa nukleotida dari gen 16s rRNA terlihat, maka dilakukan analisis dengan menggunakan program Bioedit.

Analisis BLAST dilakukan dengan tujuan untuk membandingkan hasil yang diperoleh dengan hasil sekuen DNA dari seluruh dunia dari hasil yang didepositkan pada database gen bank sekuen publik. Analisis BLAST dilakukan secara online pada website NCBI, 2017: (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>).

Ciri-ciri yang paling mirip dengan squens DNA yang diperoleh, dapat dilihat nilai Max Score dan Total Score sama, Query Coverage mendekati 100%, E-value mendekati 0 dan max ident mendekati 100%. Yang terpenting adalah presentase database yang tertutupi oleh Query. Nilai nol pada E-Value menunjukkan hasil lebih terpercaya dan nilai 1 pada E-Value tidak boleh digunakan.

Pada dasarnya yang paling penting adalah nilai *Query coverage* karena persentase Database dapat tertutup oleh nilai *Query*. Apabila nilai *E-Value* semakin mendekati nol. Maka hasilnya akan lebih terepecaya.

Program nucleotide Blast secara otomatis akan memproses alignment data sekuens query dengan database GenBank. Hasil analisis dengan nucleotide Blast akan menampilkan visualisasi grafik penyejajaran sekuens, deskripsi setiap data sekuens

yang sesuai dengan sekuens query, dan hasil alignment untuk setiap sekuens yang sesuai dengan database.

Alasannya melakukan penelitian ini dengan pengujian molekuler karena hasilnya lebih akurat dan waktu yang dibutuhkan sangat singkat.

Adapun identifikasi bakteri menggunakan 16S rRNA dilakukan berdasarkan perbandingan urutan basa yang konservatif. Jika urutan basa memiliki persamaan yang tinggi maka strain dapat dimasukkan dalam satu spesies yang sama. Hasil analisis BLASTn terhadap gen 16S rRNA yang mempunyai homologi urutan kurang dari 98% menunjukkan bahwa spesies yang dibandingkan adalah spesies berbeda. Homologi antara 93-95% menunjukkan bahwa spesies yang dibandingkan terdapat pada tingkatan genus yang berbeda. Data urutan basa dari berbagai spesies mikroba telah dikumpulkan dalam sebuah database yang dapat diakses. Kumpulan data spesies tersebut mencakup data klasifikasi diagnosa yang dilakukan berdasarkan persamaan urutan basa menggunakan jarak matrik, metode yang sering digunakan adalah *Multiple Sequence Alignment* (MSA) merupakan sebuah metode yang mengelompokkan suatu strain berdasarkan derajat kesamaan urutan basa antar spesies (Wulandari, 2011).

Berdasarkan table hasil analisis blast di NCBI pada sampel air liur murni (NoA) dengan jumlah bakteri yaitu 8 spesies memiliki nilai *Query cover* masing-masing 100%. Dengan demikian persentase tersebut menunjukkan keselarasan panjang sekuens sampel dengan *database* spesies yang terdapat pada *gene bank*. Semakin tinggi nilai persentase dari *Query cover* maka semakin tinggi pula tingkat

homologinya (Nugraha, 2014). Adapun nilai *E-Value* mendekati nol, menunjukkan spesies yang ada pada *database* hampir homolog dengan sekuen sampel. Karena semakin rendah nilai *E-Value* maka tinggi tingkat homologinya (Claverie dan Notredama, 2003). Nilai *identity* dari masing-masing spesies yaitu 88% dan 89%, jika nilai semakin tinggi dan mendekati 100% maka tingkat homologinya juga semakin tinggi. Tingginya nilai persentase ini akan mengindikasikan persamaan sekuen sampel dengan sekuen *database* (Claverie dan Notredama, 2003).

Berdasarkan table hasil analisis blast di NCBI pada sampel swab (NoB) dengan jumlah bakteri yaitu 5 spesies, memiliki nilai *Query cover* masing-masing 100% dan juga ada yang 99%.. Dengan demikian persentase tersebut menunjukkan keselarasan panjang sekuens sampel dengan *database* spesies yang terdapat pada *gene bank*. Semakin tinggi nilai persentase dari *Query cover* maka semakin tinggi pula tingkat homologinya (Nugraha, 2014). Adapun nilai *E-Value* yaitu 0.0 hasilnya lebih terpercaya dan menunjukkan spesies yang ada pada *database* hampir homolog dengan sekuen sampel. Karena semakin rendah nilai *E-Value* maka tinggi tingkat homologinya (Claverie dan Notredama, 2003). Nilai *identity* dari masing-masing spesies yaitu 95% dan 96%, jika nilai semakin tinggi dan mendekati 100% maka tingkat homologinya juga semakin tinggi. Tingginya nilai persentase ini akan mengindikasikan persamaan sekuen sampel dengan sekuen *database* (Claverie dan Notredama, 2003).

Adapun spesies bakteri yang diperoleh dari penelitian ini pada sampel NoA, yaitu:

1. *Tepidimonas* sp

Bakteri ini merupakan bakteri gram negatif, berbentuk basil, *thermophilic* ditemukan di pemandian air panas, dan tidak menutup kemungkinan bisa ditemukan pada tubuh manusia karena adanya kontaminasi. Sejauh ini efek patogennya ada tetapi masih belum diketahui an kemungkinan bakteri ini termasuk dalam bakteri penjajah.

Ada beberapa jenis bakteri *Tepidimonas* sp dari hasil blast, yang ditemukan memiliki strain yang berbeda yaitu Strain AA2, Strain 72277, Strain 72278, Strain 72256, Strain 72238, Strain PL12, Strain LS9, Strain BR5, Strain BR,3Strain 72259.

Adapun klasifikasi yaitu:

Kingdom : Bacteria
 Filum : Proteobacteria
 Kelas : Betarotobacteria
 Ordo : Burkholderiales
 Famili : Comamonadaceae
 Genus : *Tepidimonas*
 Spesies : *Tepidimonas* sp (Bergey, 1994).

2. *Tepidimonas* *thermarum*

Bakteri ini memiliki pertumbuhan yang optimal pada suhu sekitar 50-55°C, dan beberapa tidak memiliki pigmen. Ditemukan di Elisenquelle di Aachen, Jerman.

Beberapa isolat bakteri yang tidak berpigmen, dengan suhu pertumbuhan optimal sekitar 50–55 ° C, ditemukan dari Elisenquelle di Aachen, Jerman. *Caldimonas manganoxidans* (Albuquerque dkk, 2008). Adapun klasifikasi yaitu:

Kingdom : Bacteria
 Filum : Proteobacteria
 Kelas : Betaroteobacteria
 Ordo : Burkholderiales
 Famili : Comamonadaceae
 Genus : Tepidimonas
 Spesies : *Tepidimonas thermarum*(Bergey, 1994).

3. *Tepidimonas taiwanensis*

Bakteri ini termasuk bakteri termofilik. Bakteri ini ditemukan dari mata air panas yang terletak di daerah Pingtung, Taiwan selatan. Bakteri ini termasuk bakteri gram negatif dan bersifat motil. Suhu optimum pertumbuhan yaitu pada suhu 55°C dan pH 5.7 (Thie lai hen, 2006).

Ada beberapa jenis bakteri *Tepidimonas taiwanensis* dari hasil blast, yang ditemukan memiliki strain yang berbeda yaitu Strain MK5, Strain 104868, Strain 11-, Strain A01 Strain 1B_0605. Adapun klasifikasi yaitu:

Kingdom : Bacteria
 Filum : Proteobacteria
 Kelas : Betaroteobacteria
 Ordo : Burkholderiales
 Famili : Comamonadaceae
 Genus : Tepidimonas

Spesies : *Tepidimonas taiwanensis*(Bergey, 1994).

4. *Tepidimonas fonticaldi*

Tepidimonas fonticaldi bersifat aerobik, Gram-negatif, motil dan berbentuk batang. Diameter 0,3-0,5 mm dan panjang 0,6-1,7 mm. Termasuk bakteri aerobik, gram negatif, motil, dan membentuk koloni non-berpigmen. Pertumbuhan terjadi pada 35-60 ° C (optimum, 55 ° C), pH 7,0-9,0 (optimal, pH 7,0) (Wen-MingChena, 2005).

Ada beberapa jenis bakteri *Tepidimonas fonticaldi* dari hasil blast, yang ditemukan memiliki strain yang berbeda yaitu

Kingdom : Bacteria

Filum : Proteobacteria

Kelas : Betarotobacteria

Ordo : Burkholderiales

Famili : Comamonadaceae

Genus : *Tepidimonas*

Spesies : *Tepidimonas fonticaldi*(Bergey, 1994).

5. *Tepidimonas aquatica*

Tepidimonas aquatica diisolasi dari tangki air panas di Coimbra. Termasuk bakteri aerobik, gram negatif, motil, dan membentuk koloni non-berpigmen. Pertumbuhan terjadi pada 35-60 ° C (optimum, 55 ° C), pH 7,0-9,0 (optimal, pH 7,0) (Wen-MingChena, 2005).

Ada beberapa jenis bakteri *Tepidimonas aquatic* dari hasil blast, yang ditemukan memiliki strain yang berbeda yaitu:

Kingdom : Bacteria
 Filum : Proteobacteria
 Kelas : Betarotobacteria
 Ordo : Burkholderiales
 Famili : Comamonadaceae
 Genus : *Tepidimonas*
 Spesies : *Tepidimonas aquatic* (Bergey, 1994).

6. *Caldimonas* sp

Termasuk bakteri gram negatif dan mikroorganisme termofilik. Bersifat motil dan berbentuk basil. Kondisi optimum untuk pertumbuhan bakteri ini adalah 55°C dan pH 7 (Sharul Azim, 2015).

Ada beberapa jenis bakteri *Caldimonas* dari hasil blast, yang ditemukan memiliki strain yang berbeda yaitu

Kingdom : Bacteria
 Filum : Proteobacteria
 Kelas : Betarotobacteria
 Ordo : Burkholderiales
 Famili : Comamonadaceae
 Genus : *Caldimonas*
 Spesies : *Caldimonas* sp (Bergey, 1994).

1. *Caldimonas taiwanensis*

Bakteri ini termasuk bakteri gram negatif, berbentuk basil dan bersifat motil. Kondisi optimum untuk pertumbuhan bakteri ini adalah 55°C dan pH 7. Diisolasi dari sumber air panas yang berlokasi di daerah Pingtung, yang terletak di dekat bagian selatan Taiwan (Wen-MingChena, 2005).

Bakteri ini dari genus *Caldimonas* dari keluarga Comamonadaceae. Genus *Caldimonas* terdiri dari gram-negatif, motil oleh satu kutub flagellum, berbentuk batang, oksidase dan katalase positif, toleran *thermo-alkali*, *chemoorganoheterotrophic*, bakteri aerob (K Rakshak, 2013).

Ada beberapa jenis bakteri *Caldimonas taiwanensis* dari hasil blast, yang ditemukan memiliki strain yang berbeda yaitu Strain MK11, Strain On1.

Kingdom : Bacteria
 Filum : Proteobacteria
 Kelas : Betarotobacteria
 Ordo : Burkholderiales
 Famili : Comamonadaceae
 Genus : *Caldimonas*
 Spesies : *Caldimonas taiwanensis* (Bergey, 1994).

2. *Caldimonas manganoxidans*

Caldimonas manganoxidans termasuk bakteri termofilik, gram negatif, bakteri aerob, Tingkat pertumbuhan tertinggi dicapai pada 50 ° C. PH optimum untuk pertumbuhan adalah diisolasi dari sumber air panas 7–8 (Minoru Takeda, 2002).

Ada beberapa jenis bakteri *Caldimonas manganoxidans* dari hasil blast, yang ditemukan memiliki strain yang berbeda yaitu

Kingdom : Bacteria
 Filum : Proteobacteria
 Kelas : Betaroteobacteria
 Ordo : Burkholderiales
 Famili : Comamonadaceae
 Genus : Caldimonas
 Spesies : *Caldimonas manganoxidans* (Bergey, 1994).

Adapun spesies bakteri yang diperoleh dari penelitian ini pada sampel NoB, yaitu:

1. *Pasteurellaceae bacterium*

Adapun klasifikasi dari *Pasteurellaceae bacterium* yaitu:

Kindom : Bacteria
 Filum : Proteobacteria
 Kelas : Gammaproteobacteria
 Ordo : Pasteurellales
 Famili : Pasteurellaceae
 Genus : Pasteurella
 Spesies : *Pasteurellaceae bacterium* (Bergey, 1994).

Ada beberapa jenis bakteri *Pasteurellaceae bacterium* dari hasil blast, yang ditemukan memiliki strain yang berbeda yaitu *Pasteurellaceae bacterium* strain 7161, *Pasteurellaceae bacterium* D2018 98, *Pasteurellaceae bacterium* CCUG 17204, *Pasteurellaceae bacterium* 271 clone Zo044, *Pasteurellaceae bacterium* CCUG 2243,

*Pasteurellaceae bacterium*KM555_08, *Pasteurellaceae bacterium*M2500/96/3, *Pasteurellaceae bacterium*D227_99.

Keluarga *Pasteurellaceae* saat ini terdiri dari genera, *Pasteurella*, *Actinobacillus*, dan *Haemophilus*. Infeksi dengan *Pasteurellaceae* ditemukan di semua jenis mamalia dan unggas. Bakteri ini adalah organisme yang paling umum diisolasi dari binatang peliharaan. Termasuk bakteri patogen dan telah terlibat sebagai agen penyebab berbagai penyakit. Dapat menyebabkan infeksi klinis termasuk pneumonia, konjungtivitis, metritis, cystitis, infeksi kulit; dan *panophthalmitis*. *Pasteurellaceae* juga diketahui mempengaruhi sistem kekebalan tubuh dan mengubah respon imun (Frank Bootz, 1998).

Bakteri ini tergolong kelompok gram negatif, dan merupakan fakultatif anaerob. *Pasteurellaceae* merupakan organism non motil, berbentuk batang atau *cocobacillus* berukuran panjang 0.15 – 1.25 μm , serta dikelilingi kapsul. (Losos, 1986).

Penyakit yang disebabkan oleh *Pasteurella* disebut pasteurellosis. Pasteurellosis merupakan penyakit infeksi akut yang disebabkan oleh bakteri *Pasteurella* yang merupakan bakteri anaerobic fakultatif (mampu bertahan hidup tanpa oksigen dan tetap berfungsi diberbagai kondisi). *Pasteurella* termasuk ke dalam ordo pasteurellales yang familinya pasteurellaceae. Ada 4 spesies lagi dari genus *Pasteurella* ini, diantaranya adalah *Pasteurella multocida*, *Pasteurella haemolytica*, *Pasteurella pneumotropica* dan *Pasteurella ureae*. *Pasteurella Multocida* dan *Mannheimia Haemolytica* (*Pasteurella Haemolytica*) adalah dua spesies *Pasteurella* yang sering dituding terlibat dalam berbagai penyakit Pasteurellosis baik secara bersama sama maupun sendiri sendiri. Kebanyakan penyakit ini disebarkan oleh anjing dan kucing. Tidak menutup kemungkinan kambing, kuda, biri-biri, tikus,

hamster, babi, serigala dan jenis-jenis unggas pun juga bisa menularkan penyakit ini. (Steele, 1979; West, 1979; Bruner dan Gillespie, 1977).

Bakteri ini punya suatu kapsul yang terdiri dari 5 kapsul + 16 serotipe. Kapsul itu antara lain adalah "A, B, D, E dan F" dengan komposisi kapsul terbanyak menimbulkan Pasteurellosis 5A, 8A dan 9A. Kapsul nantinya berfungsi sebagai tameng bakteri sewaktu ada sel fagositosis yang nyerang. Di *Pasteurella multocida* terdapat kapsul B dan E bisa menyebabkan septikemia hemoragik di berbagai hewan mamalia. Pada sapi sendiri yang mengalami penyakit ini banyak ditemukan serotype 6B dan 6E. Infeksi Pasteurellosis pada ternak domba bisa terjadi setiap saat sepanjang tahun, namun yang terjadi terhadap anak domba biasa terjadi pada bulan September hingga November. Walaupun bakteri ini termasuk flora normal di dalam tubuh, tapi bisa berubah jadi penyakit yang cukup ganas juga. Bakteri ini hidup di daerah nasofaring dan gingival termasuk kucing dan anjing. Saat menimbulkan gigitan, bakteri ini bisa saja ikut berpindah ke tubuh manusia.

Penyebaran Pasteurellosis selain masalah gizi buruk juga bisa melalui kontak langsung antara ternak yang terinfeksi dengan ternak sehat, melalui pakan dan minum yang terkontaminasi kotoran dari hidung dan mulut ternak yang terinfeksi dan faktor faktor predisposisi (kecenderungan dari sesuatu dapat menimbulkan penyakit) seperti kandang yang terlalu padat juga ikut mempermudah penyebaran, debu dan polusi yang ditimbulkan oleh asap knalpot kendaraan dapat merusak lapisan dinding trakea (tenggorokan) yang pada giliran akan dijadikan tempat melekatnya bakteri, kotoran ternak yang dibiarkan menumpuk ikut andil dalam memperkaya bakteri

dipeternakan, ventilasi didalam kandang yang kurang pengaturannya (musim dingin kedinginan musim panas kepanasan), pasar ternak dimana tempat bergerombolnya ternak dari berbagai tempat, saat ternak berada dalam kendaraan pengangkut dan percampuran ternak dipeternakan penggemukan dimana ternak datang dari berbagai peternakan. Selain itu juga penularan dapat terjadi melalui gigitan hewan terutama kucing. Infeksi juga dapat terjadi melalui inhalasi. Infeksi pada manusia dibagi dalam 3 kelompok:

1. Infeksi setelah gigitan atau cakaran.
2. Infeksi setelah kontak dengan hewan tanpa melalui gigitan atau cakaran.
3. Infeksi tanpa pernah ada kontak dengan hewan.

Mikroorganisme, penyebab penyakit kolera pada ayam (*fowl cholera*), yang sekarang ini dikenal sebagai *Pasteurella multocida*. Genus lain yang bersifat patogen yang termasuk dalam familia ini adalah *Bordetella*, *Brucella*, *Hemophilus*, *Moraxella* dan *Actinobacillus*, umumnya kecil berbentuk kokoid sampai bentuk batang (Bruner dan Gillespie, 1973).

2. *Bibersteinia trehalosi*

Bibersteinia trehalosi adalah isolat bakteri yang paling umum yang menyebabkan penyakit paru di ruminansia di seluruh dunia. Penyakit ini terdapat pada sapi dan ruminansia kecil. *Bibersteinia trehalosi* menyebabkan penyakit pernafasan pada hewan ruminansia terutama pada domba liar dan domestik. Baru-baru ini, telah terjadi peningkatan jumlah isolat *B. trehalosi* yang diperoleh dari sampel diagnostik dari kasus penyakit pernafasan sapi (Christy J. Hanthorn, 2014).

Ada beberapa jenis bakteri *Bibersteinia trehalosi* dari hasil blast, yang ditemukan memiliki strain yang berbeda yaitu *Bibersteinia trehalosi* USDA-ARS-

USMARC-189, *Bibersteinia trehalosi* USDA-ARS-USMARC-189, *Bibersteinia trehalosi* USDA-ARS-USMARC-192, *Bibersteinia trehalosi*.

Adapun klasifikasi dari *Bibersteinia trehalosi* yaitu:

Kindom : Bacteria
 Filum : Proteobacteria
 Kelas : Gammaproteobacteria
 Ordo : Pasteurellales
 Famili : Pasteurellaceae
 Genus : Bibersteinia
 Spesies : *Bibersteinia trehalosi* (Bergey, 1994).

3. *Bibersteinia* sp

Adapun klasifikasi dari *Bibersteinia* sp yaitu:

Kindom : Bacteria
 Filum : Proteobacteria
 Kelas : Gammaproteobacteria
 Ordo : Pasteurellales
 Famili : Pasteurellaceae
 Genus : Bibersteinia
 Spesies : *Bibersteinia* sp (Bergey, 1994).

Bibersteinia sp adalah bakteri dari famili Pasteurellaceae bakteri ini merupakan bakteri patogen yang dapat menyerang hewan ternak terutama pada sapi dan kambing. Selain itu bakteri ini dapat menyebabkan *Pneumonia* (Blackall, 2007).

4. *Pasteurella trehalosi*

Pasteurella trehalosi adalah bakteri patogen penting dari domba, yang terutama terkait dengan infeksi sistemik yang serius pada domba dewasa tetapi juga memiliki hubungan dengan penyakit pneumonia (Robert L.Davies, 1997).

Adapun klasifikasi dari *Pasteurella trehalosi* yaitu:

Kindom	: Bacteria
Filum	: Proteobacteria
Kelas	: Gammaproteobacteria
Ordo	: Pasteurellales
Famili	: Pasteurellaceae
Genus	: Pasteurella
Spesies	: <i>Pasteurella trehalosi</i> (Bergey, 1994).

5. *Ursidibacter maritimus*

Ursidibacter maritimus ditemukan pada hewan berdarah panas seperti ternak dan hewan peliharaan (Mie, 2015). Namun, hampir semua penyelidikan pada hewan vertebrata, termasuk reptil dan ikan juga ditemukan. Bakteri *Ursidibacter maritimus* merupakan kelompok bakteri gram negatif bersifat obligat atau parasit yang dapat menyerang lapisan mukosa dan sistem pernapasan, dari saluran pernapasan bagian atas saluran *oropharynx*, saluran reproduksi dan mungkin bagian saluran usus (Christensen & Bisgaard 2008). Di isolasi dari rongga mulut beruang kutub yang hidup liar. Bakteri *Ursidibacter maritimus* memiliki hubungan kekerabatan dengan *pastereullaceae*.

Ada beberapa jenis bakteri *Ursidibacter maritimus* dari hasil blast, yang ditemukan memiliki strain yang berbeda yaitu *Ursidibacter maritimus* strain Pb43106, *Ursidibacter maritimus* Pb43106, *Ursidibacter maritimus* Malikx, *Ursidibacter maritimus* Nuukx, *Ursidibacter maritimus* Pb43104, *Ursidibacter maritimus* Pb43102.

Adapun klasifikasi dari *Ursidibacter maritimus* yaitu:

Kindom : Bacteria
Filum : Proteobacteria
Kelas : Gammaproteobacteria
Ordo : Pasteurellales
Famili : Pasteurellaceae
Genus : *Ursidibacter*
Spesies : *Ursidibacter maritimus* (Bergey, 1994).

BAB V

PENUTUP

A. Kesimpulan

Adapun hasil identifikasi molekuler saliva anjing (*Canis lupus familiaris*) ras Golden retriever diperoleh bakteri pada sampel NoA dengan metode langsung yaitu bakteri *Tepidimonas thermarum*, *Caldimonas manganoxidans*, *Tepidimonas taiwanensis*, *Caldimonas taiwanensis*, *Caldimonas* sp, *Tepidimonas* sp, *Tepidimonas fonticaldi* dan *Tepidimonas aquatica*. Sedangkan bakteri pada sampel NoB dengan metode swab yaitu *Pasteurellaceae bacterium*, *Bibersteinia trehalosi*, *Bibersteinia* sp, *Pasteurella trehalosi*, *Unrsidibacter maritimus*.

B. Saran

Adapun saran pada penelitian selanjutnya yaitu perlunya pengembangan penelitian lebih mendalam tentang identifikasi bakteri pada saliva anjing (*Canis lupus familiaris*) dan diharapkan dapat menambah spesies anjing (*Canis lupus familiaris*) yang diteliti agar dapat diperoleh perbandingan dari kontrol tersebut serta menggunakan anjing rumahan dan anjing liar, selain itu menggunakan metode yang lebih signifikan.

KEPUSTAKAAN

- Abdullah bin Muhammad, dkk. *Lubaaatul Tafsir Min Ibni Katsiir Tafsir Ibnu Katsir Jilid 4*. Jakarta: Pustaka Ibnu Katsir, 2004.
- Badan Litbang dan Diklat Kementerian Agama RI. *Hewan dalam perspektif Al-Qur'an dan Sains (Tafsir Ilmi)*. Jakarta: Lajnah Pentashihan Mushaf Al-Qur'an, 2012.
- al- Bukhari, Abu 'Abdullah Muhammad bin Ismail. *al-Jami' al-Sahih*. Beirut: Dar al-Fikr, tt.
- Albuquerque et al. Centre County Prevention Coalition. Family Bonding. March 31, 2008. Chan DW. 2005. Self-Perceived Creativity, Family Hardiness, And Emotional Intelligence Of Chinese Gifted Students in Hong Kong. *Journal of Secondary Gifted Education*, Vol 16, 2-3 (2007): 47-56l.
- Al-Nawawi, Abu Zakaria Yahya bin Syarif. *al-Minhaj fii Syarh Ahahih Muslim*. Baitul Fikr, 2000.
- American Kennel Club. "The Complete Dog Book: The Photograph, History and Official Standard of Every Breed Admitted to AKC Registration, and the selection, Training, Breeding, Care and Feeding of Pure-Bred Dogs". 18th Edition, 1992.
- Badan Litbang dan Diklat Kementerian Agama RI. *Hewan dalam Perspektif Al-Qur'an dan Sains (Tafsir Ilmi)*. Jakarta: Lajnah Pentashihan Mushaf AL-Qur'an, 2012.
- Bergey MJ, Tymoczko JL, and Styer L. *Biochemistry*. Six edition. San Frisco: Freeman, 2007.
- Blackall P J, *et all*. "Reclassification of (*Pasteurella*) trehalosi as *Biberstenia trehalosi* gen. nov., comb. Nov." *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* No. 57 (2007) p: 666-674.
- Bootz Frank, Kirschnek Susanne, Nicklas Werner, Wyss Stefanie K and Homberger Felix R. "Detection of Pasteurellaceae in Rodents by Polymerase Chain Reaction Analysis." *American Association for Laboratory Animal Science* 48 No. 5 (1998) p: 542-543.

- Bruner, D.W. and J.H. Gillespie. *Hagan's Infectious Disease of Domestic Animals*. London: Cornell University Press, 1973.
- Buxton, A. and G. Fraser. *Animal Microbiology*. Oxford: Blackwell Scientific Publication, 1977.
- Carson, Susan, and Roberston Dominique. *Manipulation and Expression of Recombinant DNA, 2nd Edition*. USA: Elsevier Academic Press, 2006.
- Castellani, A., Chalmers, A.J. *Manual of Tropical Medicine*, 3rded. New York Williams: Wood and CoP.937, 1919.
- Chen Tie Lai, Chou Yi Ju, Arun Wen Ming Chen Bhagwath. Young Chiu Chung. “*Tepidimonas taiwanensis* sp. nov., A Novel Alkaline Protease Producing Bacterium Isolated From A Hot Spring. *Extremophiles* 10 (2006) p: 35-40.
- Chena Wen-Ming, Changb Jo-Shu, Chiu Ching-Hsiang, Changc Shu-Chen, Chena Wen-Chieh, Jianga Chii-Ming. “*Caldimonas taiwanensis* sp. nov., a amylase producing bacterium isolated from a hot spring.” *Systematic and Applied Microbiology* 28 (2005) p: 415–420.
- Christensen, H. & Bisgaard M. “Taxonomy and biodiversity of members of Pasteurellaceae. In *Pasteurellaceae: Biology, Genomics and Molecular Aspects*, Edited by P. Kuhnert & H. Christensen.” *Norfolk: Caister Academic Press* (2008).p: 1–26.
- Claudia Moreira, Fred A. Rainey, M. Fernanda Nobre, Manuel T. da Silva and Milton S. da Costa.” *Tepidimonas ignava* gen. nov., sp. nov., a new chemolithoheterotrophic and slightly thermophilic member of the β -Proteobacteria.” *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 50 (2000) p: 735–742.
- Claverie JM, and Notredame C. *Bioinformatics for Dummies*. Indianapolis (USA): Wiley Publishing, 2003.
- Davies Robert L, Arkinsaw Scott and Selander Robert K. “Genetic relationships among *Pasteurella trehalosi* isolates based on multilocus enzyme electrophoresis.” *Microbiology* 143 (1 997) p: 2841 -2849.
- Darmo H., dan Ari R. “Prinsip Umum dan pelaksanaan *Polymerase Chain Reaction* (PCR)”. Universitas Surabaya: Pusat Studi Bioteknologi. 9 No. 1 (2000)p: 1-3.

- Debra. *Discover Magazine*, "The Biology of Saliva". Inc: Wikimedia Foundation, 2005.
- Duncan A.W, Marr H.S, Birkenheuer A.J, Maggi R.G, Williams L.E and Correa M.T. "Bartonella DNA in the Blood and Lymph Nodes of Golden Retrievers with Lymphoma and in healthy Controls". *Journal of Veterinary Internal Medicine* V 22 No. 1 (2008): p. 89-95.
- Fiennes R dan A Fiennes. *The Natural History of the Dog*. London: Weidenfeld and Nicolson, 1968.
- Fatchiyah, Estri LA, Sri W, Sri R. *Biologi Molekuler Prinsip dasar dan Analisis*. Jakarta: Erlangga, 2011.
- Fekadu, M. Shaddock, J.H, Baer G.M. "Intermittent Excretion of rabies Virus in the Saliva of a Dog Two and Six Months after it Had Recovered from Experimental Rabies." *Am J Trop Med Hyg* Vol 30 No. 5 (1981) p: 113-115.
- Gaffar, Shabami. *Buku Ajar Bioteknologi Molekul*. Bandung: Jurusan Kimia FMIPAUNPAD, 2007.
- Ghazali Sharul Azim Mohd, and Hamid Tengku Haziya Amin Tengku Abdul. "New Lipase Producing β -proteobacteria Strains *Caldimonas* sp. and *Tepidimonas* sp. Isolated from a Malaysian Hot Springs." *Sains Malaysiana* 44 No 5 (2015) p: 701–706
- Handayanto. *Biologi Tanah Landasan Pengelolaan Tanah Sehat*. Yogyakarta: Pustaka Adipura, 2009.
- Hanthorn Christy J, Dewell Reneé D, Cooper Vickie L, Frana Timothy S, Plummer Paul J, Wang Chong and Dewell Grant A. "Randomized clinical trial to evaluate the pathogenicity of *Bibersteinia trehalosi* in respiratory disease among calves." *BMC Veterinary Research* (2014) p: 10-89.
- James D.W, John T, David T.K. *DNA Rekombinan*. Jakarta: Erlangga, 1983.
- Jeffrey Hakim. *Tanah dan Sabun Tanah Sebagai Bahan Antimikroba Terhadap Air Liur Anjing*. Bogor: Institut Pertanian Bogor. (2008):p 12-18.
- Katsir, Ibnu, *Al Misbaahul Muniir fii Tahdziibi Tafsir Ibnu Katsir Terj, Shahih Ibnu Katsir Jilid 3*. Jakarta: Pustaka Ibnu Katsir, 2006.

Kementerian Agama RI al-Qur'an dan Terjemahannya. Surabaya: Duta Ilmu, 2002.

Kikuchi, K. Karasawa, T. Piao, C. Hidai, H. Yamaura, H. Totsuka, H. Morikawa, T. Takayama, M. "molecular Confirmation of Transmission Route of *Staphylococcus intermeius* in mastoid Cavity Infection from Dog Saliva." *J Infect Chemother* v 10 No. 1 (2004): p. 46-48.

Losos, G. J. *Infectious Tropical Disease of Domesticated Animals*. Great Britain: Bath Press, 1986.

Jang Jih Lu, Perng Cherng Lih, Lee Shin Yi, and Wan Chih Chieng. "Use of PCR with Univrsal Primers and Restriction Endonuclease Digestions for Detection and Identification of Common Bacterial Pathogens in Cerebrospinal Fluid." *Journal of Clinical Microbiology* 38 No. 6 (2000): p. 2076-2080.

Mie Johanne H, *et all*. "*Ursidibacter maritimus* gen. nov., sp. nov. and *Ursidibacter articus* sp. nov., two new members of the Family Pasteurellaceae isolated from the oral cavity of bears. *International journal of Sistematic Evolutionary Microbiology* 65 (2015): 3683-3689).

Mansur, Nur Ashlihah. "Pemeliharaan Anjing Dalam Perspektif Hadis". *Skripsi*. Jakarta: Fakultas Ushuluddin UIN Syarif Hidayatullah, 2017.

Muladno. *Seputar Teknologi Rekayasa Genetika*. Bogor: Pustaka Wirausaha Muda, 2002.

Muladno. *Teknologi Rekayasa Genetika Edisi Kedua*. Bogor: IPB Press, 2010.

Nakanishi, Hiroaki., Kido, Akira., Ohmori, Takeshi., Takada, Aya., Hara, Masaaki., Adachi., Saito, Kazuyuki. "A novel method for the identification of saliva by detecting oral streptococci using PCR". *Forensic Science International* 183 (2009): p. 20-23.

Nasir, M., *Bioteknologi Potensi Dan Keberhasilannya Dalam Bidang Pertanian*. Jakarta: PT Raja Grafindo Persada, 2002.

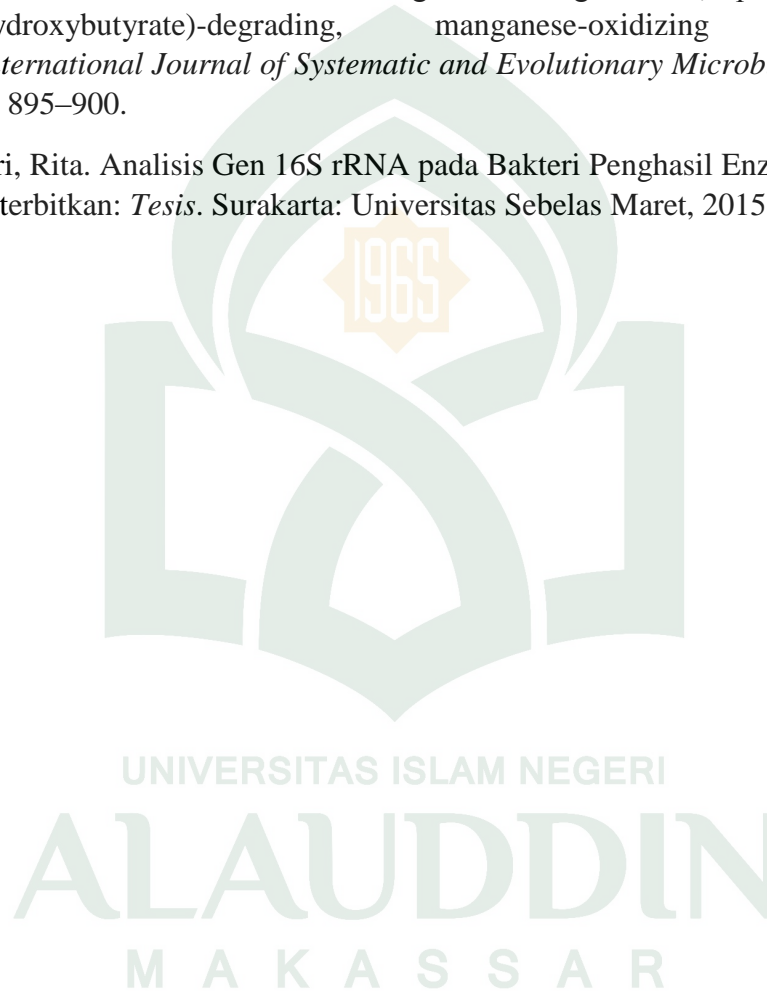
Natasaputra, Imelda. *Anjing Cerdas nan Anggun Sahabat Keluarga*. Jakarta: Penebar Swadaya, 2004.

- Nugraha F, Roslim DI, Ardilla YP Herman. "Analisis Sebagian Sekuen Gen Ferritin2 pada Padi (*Oryza sativa*L.)Indagiri ilir." *Biosaintifika Journal Biology and Biology Education* 6 No.2 (2014) p: 94-103.
- Orrell T. ITIS Global: The Integrated Taxonomic Information System (version Apr 2016). In: *Species 2000 & ITIS Catalogue of Life*, 2017.
- Pelczar, Michael J dan Chan E.C.S. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia (UI-Press), 2013.
- Peter C Goody. *Dog Anatomy*. London: J.A Allen, 1997.
- Pratiwi, Sylvia. T. *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta: Penerbit Erlangga, 2008.
- Rakshak K, Ravinder K, Nupur , Srinivas T. N. R., Kumar P. Anil. "Caldimonas meghalayensis sp. nov., a novel thermophilic betaproteobacterium isolated from a hot spring of Meghalaya in northeast India." *Author version: Antonie van Leeuwenhoek* 104 No. 6 (2013) p: 1217-1225.
- Retroningrum , S.D., *Prinsip Dasar PCR dan Amlifikasinya. Bahan kursus Biologi Molekuler*. Makassar: Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin, 2001.
- Rosadi Bayu, Taksonomi vertebrata. Tangerang Selatan: Penerbit Universitas Terbuka, 2014.
- Seifert, H. S. H. 1996. *Tropical Animal Health*. Netherland: Kluwer Academic Press, 1996.
- Shabarni G. "Pengaruh PCR (Polymerase Chain Reaction) Untuk Deteksi Retrovirus HTLV (Human T-Cell LymphotropicVirus)". Bandung: Universitas Padjadjaran. (2007) p: 9-10.
- Sjuhada, A. *Cairan Rongga Mulut Kumpulan Makalah Seminar Nasional*. Surabaya, Ikatan Ahli Ilmu Faal Indonesia, 2006.
- Sri Utami., dan Bambang S. *Identifikasi Virus Rabies Pada Anjing Liar di Kota Makassar*. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada. (2010):h. 70-71.
- Steele, J.H. *CRC Handbook Series in Zoonosis*. Florida Boca Raton: CRC Press Inc, 1979.
- Suharsono. *Penyakit Zoonotik pada Anjing dan Kucing*. Surabaya: Ikatan Ahli Ilmu Faal Indonesia, 2008.

Sulistyaningsih, Erma. *Polymerase Chain Reaction (PCR): Era Baru Diagnosis dan Manajemen Penyakit Infeksi*. Jember: Laboratorium Fisiologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember, 2007.

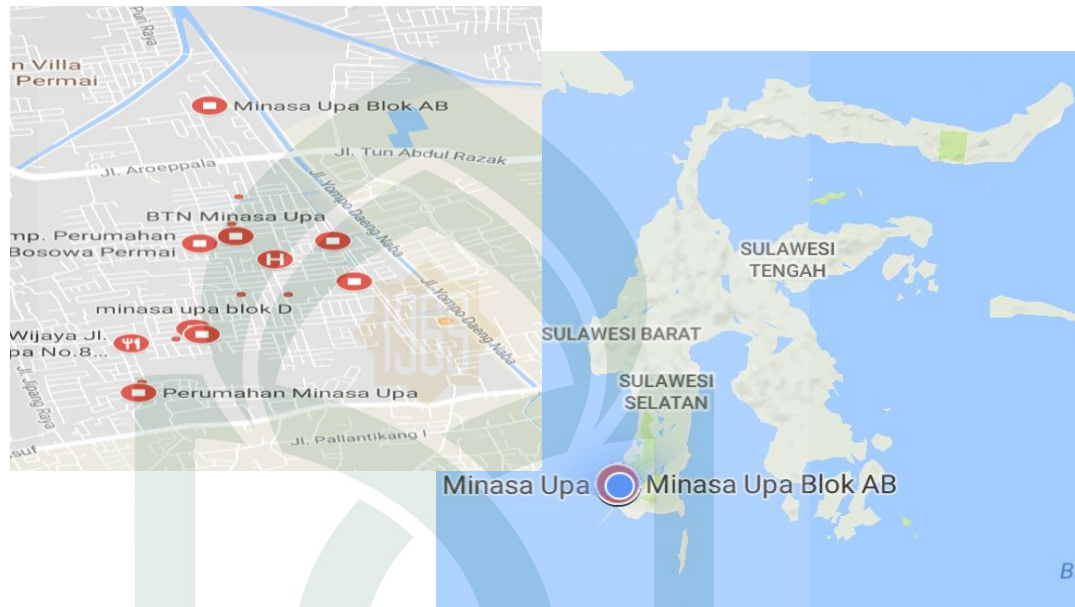
Takeda Minoru, Kamagata Yoichi, Ghiorse William C, Hanada Satoshi and Jun Koizumi ichi. "Caldimonas manganoxidans gen. nov., sp. nov., a poly(3-hydroxybutyrate)-degrading, manganese-oxidizing thermophile." *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 52 (2002) p: 895–900.

Wulandari, Rita. Analisis Gen 16S rRNA pada Bakteri Penghasil Enzim Fitase. Tidak diterbitkan: *Tesis*. Surakarta: Universitas Sebelas Maret, 2015.



Lampiran-Lampiran

- **Peta Lokasi Pengambilan Sampel**

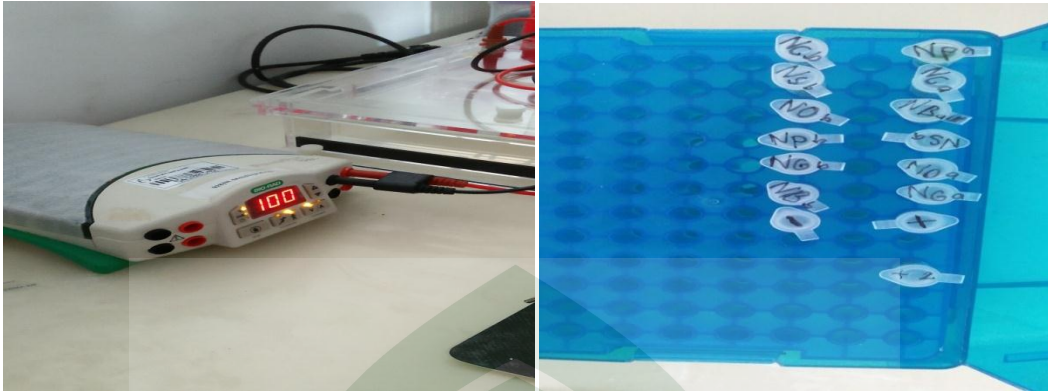


- **Proses Pengambilan Sampel**

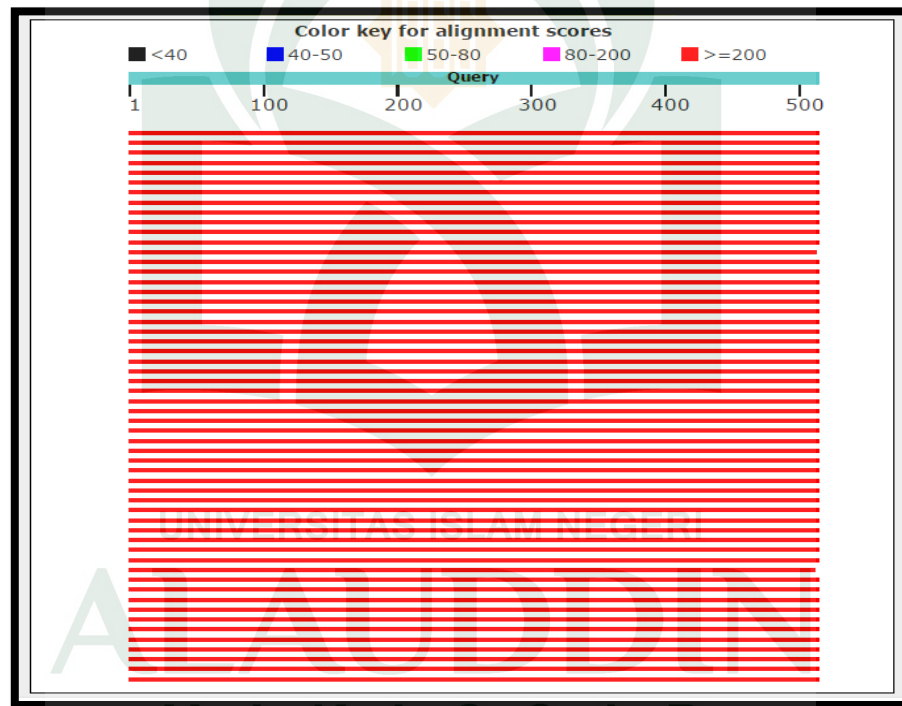


- Uji Molekuler





- Hasil Sekuensing Sampel Air Liur Murni (NoA)



Alignments Download GenBank Graphics Distance tree of results						
	Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident
<input checked="" type="checkbox"/>	Tepidimonas sp. AA2 partial 16S rRNA gene, strain AA1	627	627	100%	1e-175	89%
<input checked="" type="checkbox"/>	Tepidimonas thermarum strain AA-1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	627	627	100%	1e-175	89%
<input type="checkbox"/>	Uncultured bacterium clone Ap.ba-F-DM-HN-1-152 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	621	621	100%	6e-174	89%
<input type="checkbox"/>	Uncultured bacterium clone PSP7-2 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	621	621	100%	6e-174	89%
<input type="checkbox"/>	Uncultured bacterium clone Aeen9163 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	621	621	100%	6e-174	89%
<input type="checkbox"/>	Uncultured bacterium clone LG03-04-2 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	621	621	100%	6e-174	89%
<input type="checkbox"/>	Uncultured bacterium clone 1C227620 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	621	621	100%	6e-174	89%
<input type="checkbox"/>	Uncultured bacterium clone 1C227547 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	621	621	100%	6e-174	89%
<input type="checkbox"/>	Uncultured bacterium clone 1C226780 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	621	621	100%	6e-174	89%
<input type="checkbox"/>	Uncultured bacterium clone 1C226723 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	621	621	100%	6e-174	89%
<input type="checkbox"/>	Uncultured bacterium clone 1C226707 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	621	621	100%	6e-174	89%
<input type="checkbox"/>	Uncultured Tepidimonas sp. clone Pad-29 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	617	617	100%	8e-173	88%
<input type="checkbox"/>	Uncultured bacterium clone 1C227300 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	617	617	99%	8e-173	89%
<input type="checkbox"/>	Uncultured bacterium clone Ap.ba-F-DM-HN-5-123 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	616	616	100%	3e-172	88%

Gambar hasil BLAST sampel NoA menunjukkan bakteri *Tepidimonas* sp dan *Tepidimonas thermarum*

<input type="checkbox"/>	Uncultured bacterium clone Ph.sp-F-DM-HN-5-1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	616	616	100%	3e-172	88%
<input type="checkbox"/>	Uncultured bacterium clone PSP3-54 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	616	616	100%	3e-172	88%
<input type="checkbox"/>	Uncultured bacterium clone PSP3-10 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	616	616	100%	3e-172	88%
<input type="checkbox"/>	Uncultured bacterium clone PP7-17 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	616	616	100%	3e-172	88%
<input type="checkbox"/>	Uncultured bacterium clone PP7-13 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	616	616	100%	3e-172	88%
<input type="checkbox"/>	Tepidimonas sp. BR2 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	616	616	100%	3e-172	88%
<input type="checkbox"/>	Uncultured bacterium clone yang-B60 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	616	616	100%	3e-172	88%
<input type="checkbox"/>	Uncultured bacterium clone 1C227573 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	616	616	100%	3e-172	88%
<input type="checkbox"/>	Uncultured bacterium clone 1C226785 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	616	616	100%	3e-172	88%
<input type="checkbox"/>	Uncultured proteobacterium clone NO27FW100501SAB8 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	616	616	100%	3e-172	88%
<input type="checkbox"/>	Tepidimonas sp. SPSPC-18 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	610	610	100%	2e-170	88%
<input type="checkbox"/>	Tepidimonas sp. SPSP-6 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	610	610	100%	2e-170	88%
<input type="checkbox"/>	Caldimonas manganoxidans strain TSU_S03 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	610	610	100%	2e-170	88%
<input type="checkbox"/>	Tepidimonas taiwanensis strain MK5 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	610	610	100%	2e-170	88%
<input type="checkbox"/>	Bacterium KBM1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	610	610	100%	2e-170	88%
<input type="checkbox"/>	Uncultured bacterium clone Ao.ba-F-DM-HN-5-66 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	610	610	100%	2e-170	88%
<input type="checkbox"/>	Uncultured bacterium clone Ao.ba-F-DM-YN-4-116 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	610	610	100%	2e-170	88%
<input type="checkbox"/>	Uncultured Tepidimonas sp. clone NJFU SLX-S357 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	610	610	100%	2e-170	88%
<input type="checkbox"/>	Uncultured Tepidimonas sp. clone NJFU SLX-S22 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	610	610	100%	2e-170	88%
<input type="checkbox"/>	Uncultured bacterium clone PSP7-6 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	610	610	100%	2e-170	88%

Gambar hasil BLAST sampel NoA menunjukkan bakteri *Caldimonas manganoxidans* dan *Tepidimonas taiwanensis*

Uncultured bacterium clone PSP3-18 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	610	610	100%	2e-170	88%	KC708259.1
Tepidimonas taiwanensis gene for 16S rRNA, partial sequence, strain: NBRC 104868	610	610	100%	2e-170	88%	AB682216.1
Tepidimonas taiwanensis strain I1-1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	610	610	100%	2e-170	88%	NR_043227.1
Uncultured beta proteobacterium clone SM1G05 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	610	610	100%	2e-170	88%	AF445699.1
Beta proteobacterium OS-ac-15 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	610	610	100%	2e-170	88%	U46749.1
Uncultured Tepidimonas sp. clone NJFU_SLX-S59 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	606	606	100%	2e-169	88%	KJ127950.1
Uncultured bacterium clone bac103 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	606	606	100%	2e-169	88%	HM184973.1
Caldimonas manganoxidans strain TSU_A01 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	604	604	100%	7e-169	88%	KY048407.1
Uncultured Burkholderiales bacterium clone K2DN120 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	604	604	100%	7e-169	88%	KT308343.1
Uncultured Tepidimonas sp. partial 16S rRNA gene, clone Acqueil_37	604	604	100%	7e-169	88%	HF912311.1
Uncultured Tepidimonas sp. clone NJFU_SLX-S46 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	604	604	100%	7e-169	88%	KJ127937.1
Uncultured bacterium clone Ap.ba-F-DM-YN-4-106 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	604	604	99%	7e-169	88%	HQ639475.1
Uncultured bacterium clone PSP7-15 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	604	604	100%	7e-169	88%	KC708288.1
Unidentified marine bacterioplankton clone E400B_46 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	604	604	100%	7e-169	88%	KC002641.1
Unidentified marine bacterioplankton clone P4-3B_29 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	604	604	100%	7e-169	88%	KC001722.1
Uncultured bacterium clone N400B_46 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	604	604	100%	7e-169	88%	GU940824.1
Uncultured bacterium clone 3H-52 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	604	604	100%	7e-169	88%	EU786135.1
Dehydroabietic acid-degrading bacterium Dha-73 16S ribosomal RNA gene, complete sequence	604	604	100%	7e-169	88%	AF125877.1
Uncultured proteobacterium clone YNP_ObP_B70 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	601	601	100%	9e-168	88%	DQ243768.1

Gambar hasil BLAST sampel NoA menunjukkan bakteri *Caldimonas taiwanensis*, *Caldimonas* sp dan *Tepidimonas* sp.

Tepidimonas sp. strain YIM 72277 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	599	599	100%	3e-167	88%	MG396978.1
Tepidimonas sp. strain YIM 72278 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	599	599	100%	3e-167	88%	MG396977.1
Tepidimonas sp. strain YIM 72256 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	599	599	100%	3e-167	88%	MG396973.1
Tepidimonas sp. strain YIM 72238 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	599	599	100%	3e-167	88%	MF509266.2
Caldimonas taiwanensis strain MK11 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	599	599	100%	3e-167	88%	MF595851.1
Tepidimonas taiwanensis strain 1B_06.05 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	599	599	100%	3e-167	88%	KX113657.1
Uncultured Tepidimonas sp. partial 16S rRNA gene, clone Acqueil_24	599	599	100%	3e-167	88%	HF912299.1
Uncultured Tepidimonas sp. partial 16S rRNA gene, clone Acqueil_13	599	599	100%	3e-167	88%	HF912287.1
Uncultured Tepidimonas sp. partial 16S rRNA gene, isolate 4_54H2OII	599	599	100%	3e-167	88%	HF912283.1
Uncultured Tepidimonas sp. clone NJFU_SLX-S143 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	599	599	100%	3e-167	88%	KJ128004.1
Uncultured Tepidimonas sp. clone NJFU_SLX-S121 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	599	599	100%	3e-167	88%	KJ127987.1
Uncultured bacterium clone 12-2B-45 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	599	599	100%	3e-167	88%	KM221318.1
Caldimonas sp. B15 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	599	599	100%	3e-167	88%	KM054708.1
Uncultured Tepidimonas sp. clone NJFU_SLX-S319 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	599	599	100%	3e-167	88%	KC791015.1
Uncultured Tepidimonas sp. clone NJFU_SLX-S304 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	599	599	100%	3e-167	88%	KC791001.1
Tepidimonas fonticaldi strain PL17 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	599	599	100%	3e-167	88%	KF206381.1
Tepidimonas sp. PL12 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	599	599	100%	3e-167	88%	KF206380.1
Tepidimonas sp. LS10 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	599	599	100%	3e-167	88%	KF206379.1
Tepidimonas sp. LS9 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	599	599	100%	3e-167	88%	KF206378.1
Tepidimonas sp. BR5 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	599	599	100%	3e-167	88%	KF206377.1

Gambar hasil BLAST sampel NoA menunjukkan bakteri *Caldimonas taiwanensis*, *Tepidimonas fonticaldi* dan *Tepidimonas* sp.

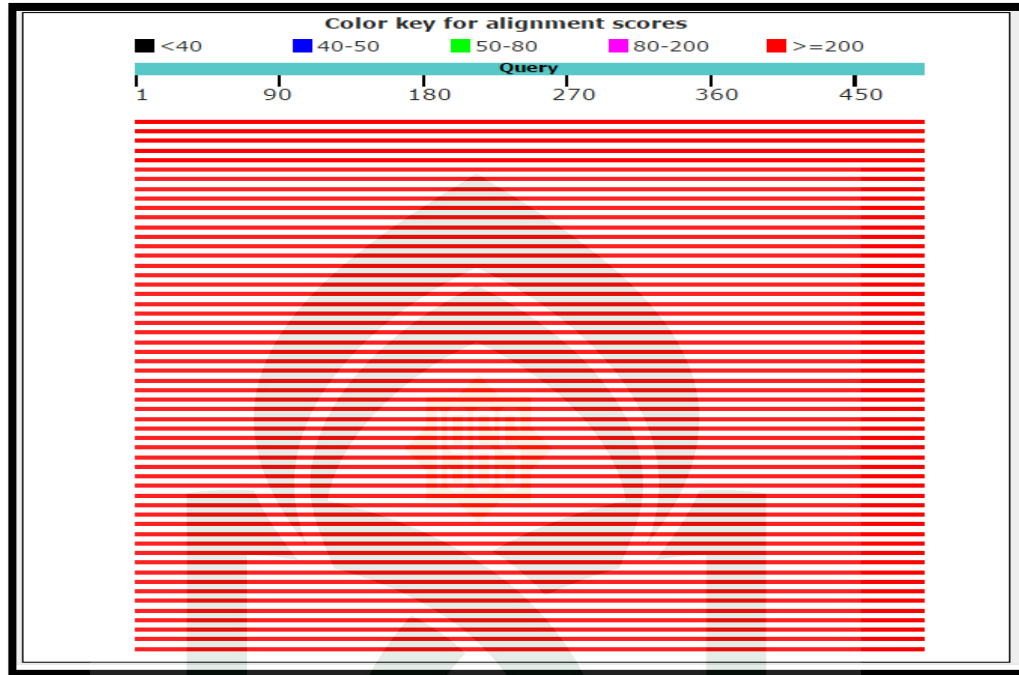
<input type="checkbox"/> Caldimonas manganoxydans strain NBRC 16448 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	599	599	100%	3e-167	88%	NR_113844.1
<input type="checkbox"/> Uncultured bacterium clone PNG_Kap3_B451 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	599	599	100%	3e-167	88%	JF935192.1
<input type="checkbox"/> Uncultured bacterium clone bac84 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	599	599	100%	3e-167	88%	HM184984.1
<input type="checkbox"/> Uncultured bacterium clone bac76 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	599	599	100%	3e-167	88%	HM184981.1
<input type="checkbox"/> Uncultured bacterium clone bac105 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	599	599	100%	3e-167	88%	HM184975.1
<input type="checkbox"/> Uncultured bacterium clone bac5 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	599	599	100%	3e-167	88%	HM184934.1
<input type="checkbox"/> Uncultured bacterium clone bac2 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	599	599	100%	3e-167	88%	HM184932.1
<input type="checkbox"/> Uncultured bacterium clone ncd1453f07c1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	599	599	100%	3e-167	88%	JF125463.1
<input type="checkbox"/> Uncultured bacterium clone G-30 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	599	599	100%	3e-167	88%	FJ901017.1
<input type="checkbox"/> Uncultured bacterium clone Aero5_E01 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	599	599	100%	3e-167	88%	FJ747212.1
<input type="checkbox"/> Uncultured bacterium clone Aero4_C06 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	599	599	100%	3e-167	88%	FJ747142.1
<input type="checkbox"/> Uncultured bacterium clone Aero2_E05 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	599	599	100%	3e-167	88%	FJ747045.1
<input type="checkbox"/> Caldimonas manganoxydans strain JCM 10698 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	599	599	100%	3e-167	88%	NR_040787.1
<input type="checkbox"/> Caldimonas taiwanensis strain On1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	599	599	100%	3e-167	88%	NR_043226.1
<input type="checkbox"/> Tepidimonas aquatica strain CLN-1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	599	599	100%	3e-167	88%	NR_025755.1
<input type="checkbox"/> Tepidimonas sp. strain YIM 72263 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	595	595	100%	4e-166	88%	MG396974.1
<input type="checkbox"/> Caldimonas manganoxydans strain TSU_UK13 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	595	595	100%	4e-166	88%	KY060005.1
<input type="checkbox"/> Uncultured Tepidimonas sp. partial 16S rRNA gene, clone Acqueil_40	595	595	100%	4e-166	88%	HF912312.1
<input type="checkbox"/> Caldimonas manganoxydans strain TSU_R63 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	593	593	100%	2e-165	88%	KY060001.1

Gambar hasil BLAST sampel NoA menunjukkan bakteri *Caldimonas taiwanensis*, *Caldimonas manganoxydans*, *Tepidimonas aquatica* dan *Tepidimonas sp.*

Download ▾ GenBank Graphics					
Tepidimonas sp. AA2 partial 16S rRNA gene, strain AA1					
Sequence ID: AM042694.1 Length: 1507 Number of Matches: 1					
Range 1: 555 to 1064 GenBank Graphics ▾ Next Match ▴ Previous Match					
Score	Expect	Identities	Gaps	Strand	
627 bits(339)	2e-175	454/511(89%)	1/511(0%)	Plus/Plus	
Query 1	CGCAGGCGGTTGTTGTAAGTCAGATGTGAAATCCCCGGGCTCAACCTGGGAATTGCGTTTT				60
Sbjct 555	CGCAGGCGGTTT-TTGTAAAGACAGAGGTGAAATCCCCGGGCTCAACCTGGGAATTGCGCTTT				613
Query 61	GAAACTGGACGGCTGGAGTGCCTGAGAGGGGGGTGGAATTCGGGTGTAGCGGTGAAATG				120
Sbjct 614	GTGACTGCAAGGCTGGAGTGCGGCAGAGGGGGATGGAATTCGGCGTGTAGCAGTGAATG				673
Query 121	CGTAGATATGTGGAGGAACACCGATGGCGAAGGCAGTCCCTGGGACTGCACTGACGCTC				180
Sbjct 674	CGTAGATATGCGGAGGAACACCGATGGCGAAGGCAGTCCCTGGGCTGCACTGACGCTC				733
Query 181	ATGCACGAAAGCGTGGGAGCAAAACAGGATTAGATACCTGGTAGTCCACGCCCTAAACG				240
Sbjct 734	ATGCACGAAAGCGTGGGAGCAAAACAGGATTAGATACCTGGTAGTCCACGCCCTAAACG				793
Query 241	ATGTCGATTGGTTGTTGGGGCTTAAGTTACTCTGTTACCAAACTTAAGCGTGAAGTCTAC				300
Sbjct 794	ATGTCGATTGGTTGTTGGGGCTTAAGTTACTCTGTTACCAAACTTAAGCGTGAAGTCTAC				853
Query 301	CCCTGGGGATACGGCCCAAGGATGAAACTCAAGGAATTGACGGGGACCCCAACAG				360
Sbjct 854	CGCCTGGGGATACGGCCCAAGGTTGAAACTCAAGGAATTGACGGGGACCCCAACAG				913
Query 361	CGGGGGATGATGTGGTATTATTCGATGCCACCCGAAAAACCTTACCTAGCCTTGACATGG				420
Sbjct 914	CGGTGGATGATGTGGTTAATTTCGATGCCACCCGAAAAACCTTACCTAGCCTTGACATGC				973
Query 421	TAGGAAATCTGCAAAATGTGGTGTGCTCTTCAGAAAGCGTGACAGAGGTGCTGCTTG				480
Sbjct 974	CAGGAACCTGCGAGATGTGGGGGTGCTCGCAAGAGAGCCTGGACACAGGTGCTGCAATG				1033
Query 481	GTTCCTCACCTCGTGTGCTGAGATGTTGG 511				
Sbjct 1034	GCCTGCTCAGCTCGTGTGCTGAGATGTTGG 1064				

Gambar perbandingan urutan nukleotida sampel NoA (Query) dengan bakteri *Tepidimonas sp* strain AA1 (Subject)

- Hasil Sekuensing Sampel Swab (NoB)



Sequences producing significant alignments:

Select: [All](#) [None](#) Selected: 0

Alignments [Download](#) [GenBank](#) [Graphics](#) [Distance tree of results](#)

Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident	Accession
Uncultured bacterium clone ncd2810c02c1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	830	830	100%	0.0	97%	JF240939.1
Uncultured bacterium clone ncd297h07c1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	830	830	100%	0.0	97%	HM272554.1
Uncultured bacterium clone ncd2806d03c1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	819	819	100%	0.0	97%	JF240850.1
Uncultured bacterium clone ncd2807a12c1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	819	819	100%	0.0	97%	JF240794.1
Uncultured bacterium clone ncd2798q07c1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	819	819	100%	0.0	97%	JF223811.1
Uncultured bacterium clone ncd2799c09c1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	819	819	100%	0.0	97%	JF223806.1
Uncultured bacterium clone ncd2810e06c1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	813	813	100%	0.0	97%	JF240953.1
Uncultured bacterium clone ncd2809a12c1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	813	813	100%	0.0	97%	JF240858.1
Uncultured bacterium clone ncd2802d08c1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	813	813	100%	0.0	97%	JF240475.1
Uncultured bacterium clone ncd2799q06c1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	813	813	100%	0.0	97%	JF240141.1
Uncultured bacterium clone ncd2809q12c1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	813	813	100%	0.0	97%	JF224058.1

Gambarhasil BLAST sampel NoB menunjukkan *Uncultured bacterium*

✓ Pasteurellaceae bacterium Orientalotterb1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	798	798	100%	0.0	96%	KJ632970.1
✓ Pasteurellaceae bacterium feline oral taxon 357 strain 7161 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	797	797	100%	0.0	96%	KM461963.1
☐ Uncultured bacterium clone nbw623d11c1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	797	797	100%	0.0	96%	KF066558.1
✓ Pasteurellaceae bacterium D2018_98 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	797	797	100%	0.0	96%	JQ356602.1
✓ Pasteurellaceae bacterium CCUG 17204 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	797	797	100%	0.0	96%	JQ356599.1
✓ Pasteurellaceae bacterium canine oral taxon 271 clone ZO044 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	797	797	100%	0.0	96%	JN713434.1
☐ Uncultured bacterium clone ncd2807f04c1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	797	797	100%	0.0	96%	JF240787.1
☐ Uncultured bacterium clone ncd2805d10c1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	797	797	100%	0.0	96%	JF240646.1
☐ Uncultured bacterium clone ncd2805d09c1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	797	797	100%	0.0	96%	JF240643.1
☐ Uncultured bacterium clone ncd1324f11c1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	797	797	100%	0.0	96%	JF104256.1
☐ Uncultured bacterium clone ncd1004e01c1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	797	797	100%	0.0	96%	HM335460.1
☐ Uncultured bacterium clone ncd957g12c1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	797	797	100%	0.0	96%	HM330830.1
☐ Uncultured bacterium clone ncd490c05c1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	797	797	100%	0.0	96%	HM315989.1
☐ Uncultured bacterium clone ncd554f04c1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	797	797	100%	0.0	96%	HM274379.1
☐ Uncultured bacterium clone ncd297a06c1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	797	797	100%	0.0	96%	HM272503.1
☐ Uncultured bacterium clone ncd545d01c1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	793	793	100%	0.0	96%	HM274198.1
✓ Pasteurellaceae bacterium CCUG 22043 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	791	791	100%	0.0	96%	JQ356614.1
✓ Pasteurellaceae bacterium KM555_08 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	791	791	100%	0.0	96%	JQ356613.1
✓ Pasteurellaceae bacterium M2500/96/3 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	791	791	100%	0.0	96%	JQ356600.1

Gambar hasil BLAST sampel NoB menunjukkan bakteri *Pasteurellaceae bacterium*

☐ Pasteurellaceae bacterium M2500/96/3 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	791	791	100%	0.0	96%	JQ356600.1
☐ Bibersteinia sp. XJMNS-134-NF2 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	791	791	100%	0.0	96%	KF828871.1
☐ Pasteurellaceae bacterium canine oral taxon 080 clone QC053 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	791	791	100%	0.0	96%	JN713243.1
☐ Uncultured bacterium clone ncd2801c05c1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	791	791	100%	0.0	96%	JF240369.1
☐ Uncultured bacterium clone ncd1730g03c1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	791	791	100%	0.0	96%	JF151212.1
☐ Uncultured bacterium clone ncd1438b11c1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	791	791	100%	0.0	96%	JF124516.1
☐ Uncultured bacterium clone ncd1075c02c1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	791	791	100%	0.0	96%	HM336349.1
☐ Uncultured bacterium clone ncd1074c03c1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	791	791	100%	0.0	96%	HM336334.1
☐ Uncultured bacterium clone ncd1003e02c1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	791	791	100%	0.0	96%	HM332747.1
☐ Uncultured bacterium clone ncd524g11c1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	791	791	100%	0.0	96%	HM276442.1
☐ Uncultured bacterium clone ncd298e10c1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	791	791	100%	0.0	96%	HM272626.1
☐ Uncultured bacterium clone ncd293a11c1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	791	791	100%	0.0	96%	HM272268.1
☐ Uncultured bacterium clone J2-02 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	791	791	100%	0.0	96%	DQ113707.1
☐ Bibersteinia trehalosi USDA-ARS-USMARC-189, complete genome	787	4726	99%	0.0	96%	CP008955.1
☐ Bibersteinia trehalosi USDA-ARS-USMARC-188, complete genome	787	4726	99%	0.0	96%	CP008954.1
☐ Pasteurellaceae bacterium D597-2_99 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	787	787	100%	0.0	95%	JQ356608.1
☐ Pasteurellaceae bacterium D452-3_99 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	787	787	100%	0.0	95%	JQ356606.1
☐ Pasteurellaceae bacterium D2941_98 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	787	787	100%	0.0	95%	JQ356603.1
☐ Bibersteinia trehalosi USDA-ARS-USMARC-192, complete genome	787	4726	99%	0.0	96%	CP003745.1
☐ Pasteurella trehalosi strain C1008-I 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	787	787	99%	0.0	96%	DQ361041.1
☐ Bibersteinia sp. Aks-10 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	785	785	100%	0.0	96%	KU999380.1

Gambar hasil BLAST sampel NoB menunjukkan bakteri *Pasteurellaceae bacterium*, *Bibersteinia trehalosi*, *Pasteurella trehalosi* dan *Bibersteinia* sp.

Pasteurellaceae bacterium KM1721_06 16S ribosomal RNA gene, partial sequence

Sequence ID: [JQ356612.1](#) Length: 1362 Number of Matches: 1

Range 1: 534 to 1025 [GenBank](#) [Graphics](#)

▼ Next Match ▲ Previous Match

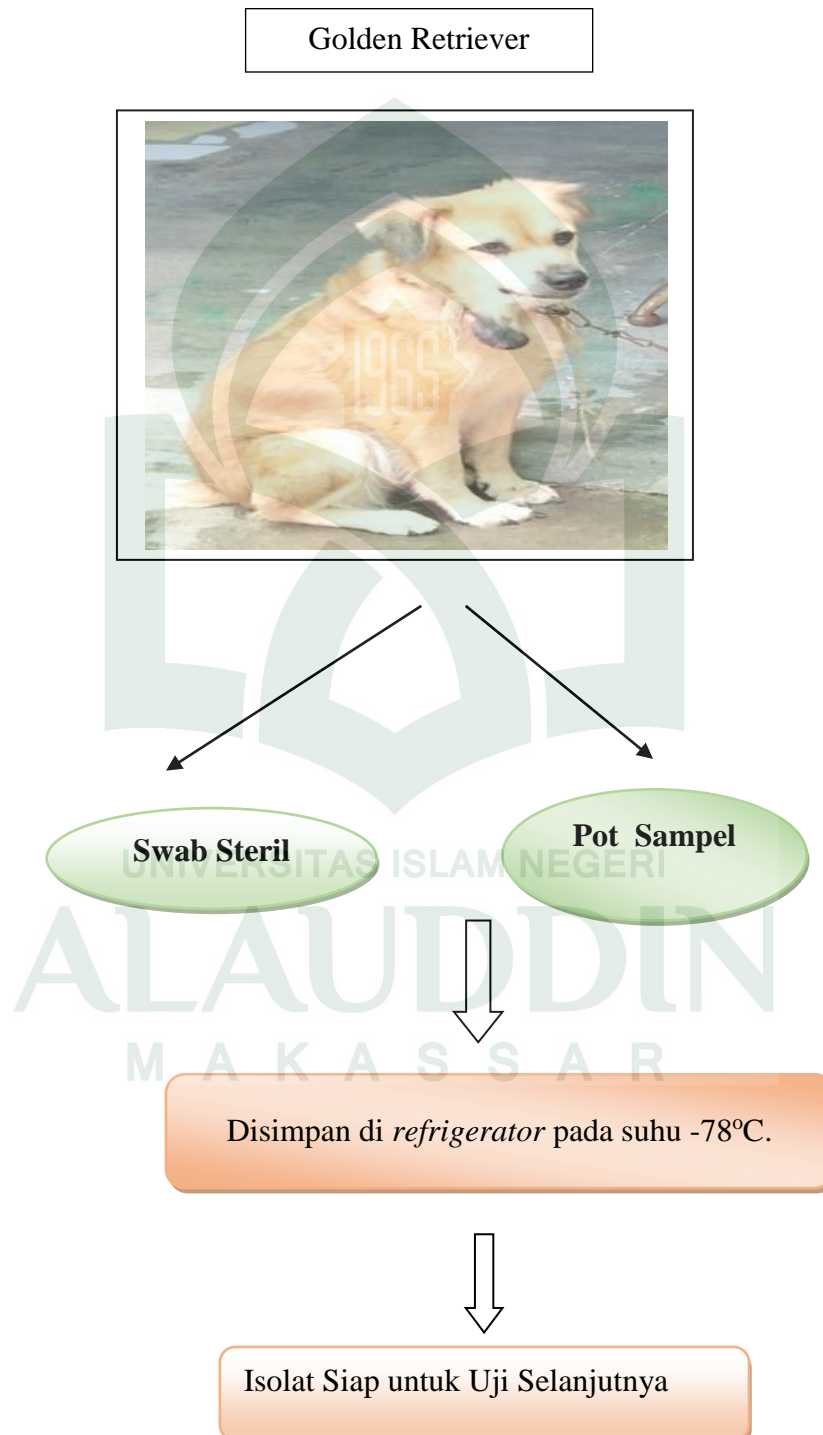
Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
802 bits(434)	0.0	473/492(96%)	1/492(0%)	Plus/Plus
Query 1	TGACTGGGCGT-AAGGGCGCGCAGGCGGATTGTTAAGTCAGATGTGAAAGCCCCGGGCTC	59		
Sbjct 534	TGACTGGGCGTAAAGGGCACGCGAGGCGGATTGTTAAGTGAGATGTGAAAGCCCCGGGCTT	593		
Query 60	AACCTGGGAATTGCATTTCAAACCTGGGAATCTAGAGTATTTTAggggggggTAGAATTCC	119		
Sbjct 594	AACCTGGGAATTGCATTTCAGACTGGCAATCTAGAGTATTTTAGGGAGGGGTAGAATTCC	653		
Query 120	ACGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAATACCGATGGCGAAGGCAGCCCCCT	179		
Sbjct 654	ACGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAATACCGAAGGCGAAGGCAGCCCCCT	713		
Query 180	GGGAATATACTGACGCTCATGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAACAGGATTAGATACCCTGG	239		
Sbjct 714	GGGAATATACTGACGCTCATGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAACAGGATTAGATACCCTGG	773		
Query 240	TAGTCCACGCTGTAAACGATGTCAATTTGGGGATTGGGCTTTAAGTTTGGTGCCCGAAGC	299		
Sbjct 774	TAGTCCACGCTGTAAACGATGTCAATTTGGGGATTGGGGTTTAACTCTGGTGCCCGAAGC	833		
Query 300	TAACGTGATAAATCGACCGCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAACTCAAATGAATTG	359		
Sbjct 834	TAACGTGATAAATCGACCGCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAACTCAAATGAATTG	893		
Query 360	ACGGGGGCCCCGACAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAAATCTATGCACCGCAAGAACCTT	419		
Sbjct 894	ACGGGGGCCCCGACAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAAATCGATGCAACGCAAGAACCTT	953		
Query 420	ACCTACTCTTGACATCCAAGGCTCGTAGAGATATGAGTGTGCCTTCGGGAACCATGA	479		
Sbjct 954	ACCTACTCTTGACATCCAAGGTTTCGAGAGATGIGAAATGTGCCTTCGGGAACCATGA	1013		
Query 480	GACAGGTGCTGC	491		
Sbjct 1014	GACAGGTGCTGC	1025		

Gambar perbandingan urutan nukleotida sampel NoA (Query) dengan bakteri *Pasteurellaceae bacterium* strain KM1721 (Subject)

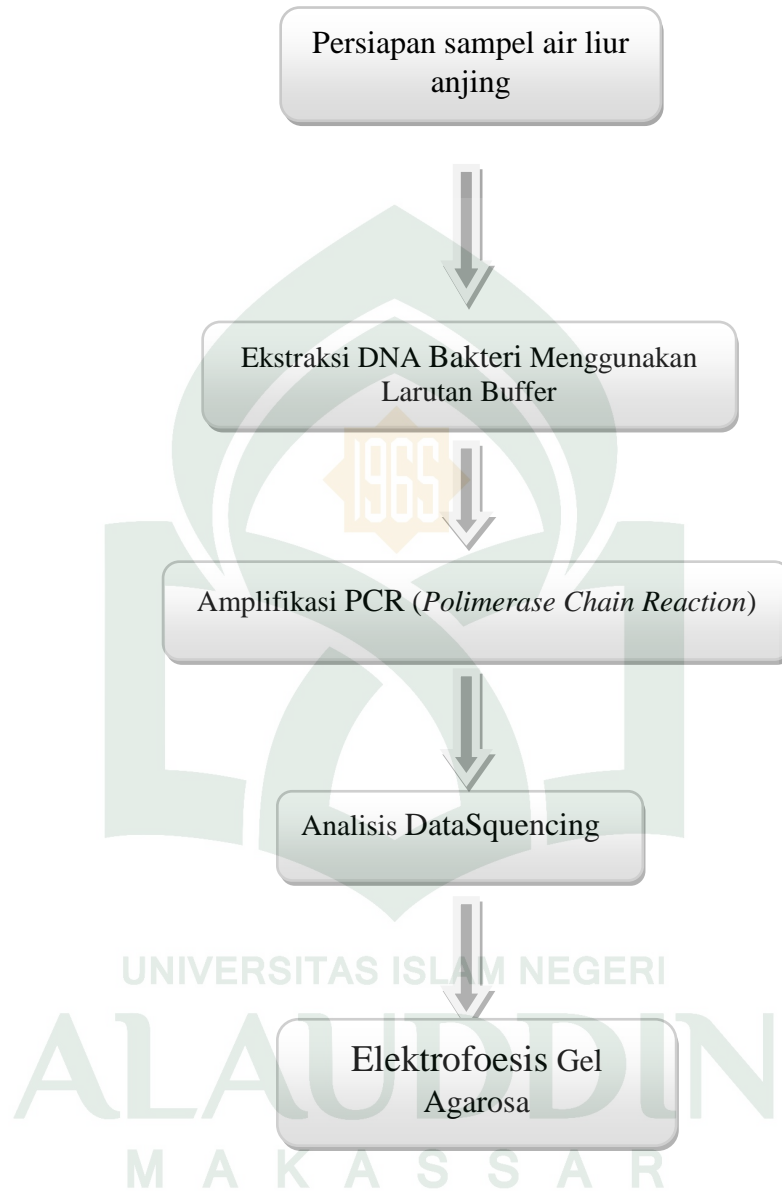
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI
ALAUDDIN
 MAKASSAR

Skema Kerja

1. Isolasi Bakteri Air Liur Anjing Liar



2. Identifikasi Molekuler



RIWAYAT HIDUP



Nama lengkap **Fitria Ramadana**, disapa “Fitria” ini dilahirkan di Kab.Sinjai, Sulawesi Selatan pada tanggal 06Maret 1996. Merupakan anak pertama dari lima bersaudara hasil buah kasih dari pasangan Suardidan Nurlinah. Mulai mengecap pendidikan formal dimulai dari Taman Kanak-Kanak di TK Pertiwi 5 Mangarabombang,kemudian melanjutkan ke tingkat Sekolah Dasar di SDNegeri 84 Mangarabombang lulus pada tahun 2008. Pada tahun yang sama, penulis melanjutkan pendidikannya ke tingkat Sekolah Menengah Pertama (SMP) Negeri 4Bontopale dan lulus pada tahun 2011, dan dengan keinginan untuk memperoleh pendidikan yang lebih baik lagi pada tahun yang sama pula penulis melanjutkan pendidikan ke tingkat Sekolah Menengah Atas (SMA) Negeri 3 Sinjai dan berhasil menyelesaikan studi SMA-nya pada tahun 2014. Kemudian pada tahun yang sama pula, penulis mengikuti pendaftaran Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SNM-PTN) di Universitas Islam Negeri (UIN) Alauddin Makassar, dan Alhamdulillah pada tahun 2014 tercatat sebagai mahasiswa di Universitas Islam Negeri (UIN) Alauddin Makassar pada Program StudiBIOLOGI Fakultas Sains dan Teknologi.

Penulis merupakan tipikal seseorang yang menyukai hal-hal yang baru dan menantang. Dan mempunyai hobbi membaca buku motivasidan menyukai suasana yang baru.

Itulah Biografi singkat yang dapat dituliskan oleh penulis, adapun pesan yang ingin disampaikan bagi pembaca, yaitu **“Tetaplah bertahan walau ada sekian banyak kegagalan di depanmu, karena kegagalan hanya untuk orang-orang yang bersungguh-sungguh, kuat dan sanggup menghadapinya”**.

Kata Motivasi:

“Bagiku, ini bukanlah akhir perjuanganku tapi disinilah awal perjuangan baru di mulai”

